Der Einfluß nutritiver Flavomycindosen auf das Wachstum keimfrei gehaltener Küken

Hans Reiter

1972

Aus dem Institut für Tierphysiologie
der Universität München
Vorstand: Prof. DDr.DDr.h.c. Johs. Brüggemann

DER EINFLUSS NUTRITIVER FLAVOMYCINDOSEN AUF DAS WACHSTUM KEIMFREI GEHALTENER KÜKEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von

Hans Reiter

aus

Dietramszell

München 1972

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen
Fakultät der Universität München

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan: Prof. Dr. J. Boessneck
Referent: Prof. DDr.DDr.h.c. J. Brüggemann
Korreferent: Priv.Dozent Dr. P.A. Bachmann

Tag der Promotion: 14. Juli 1972

MEINER FRAU

UND UNSEREN ELTERN

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
A	EINLEITUNG UND LITERATUR	1
	I. Problematik der Antibiotikazufütterung bei Nutztieren	1
	II. Angaben über das Antibiotikum Flavomycin	3
	III. Theorien über die Ursachen des nutritiven Antibiotikaeffektes	9
B	MATERIAL UND METHODIK	21
	I. Bau und Funktion der Keimfreiisolatoren	21
	II. Montage eines Plastikisolators	23
	III. Tiermaterial und Gewinnung keimfreier Küken	25
	IV. Haltung und Fütterung	26
	V. Sterilitätskontrolle der Keimfreiisolatoren	29
	VI. Versuchsanstellung	30
C	ERGEBNISSE	33
D	DISKUSSION	56
E	ZUSAMMENFASSUNG	66
F	SUMMARY	69
G	LITERATURVERZEICHNIS	72

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546011_0069

A EINLEITUNG UND LITERATUR

A 1. Problematik der Antibiotikazufütterung bei Nutztieren:

Die Mitteilung von S t o k s t a d und Mitarbeitern (1; 1949), daß durch Aureomycinzulagen im Futter eine bessere Gewichtszunahme bei Küken erzielt werden kann, führte in den letzten 20 Jahren zum Einsatz verschiedenster Antibiotika in der Nutztierfütterung.

In diesem Zusammenhang kam es zu einer intensiven Diskussion über die Vor- und Nachteile dieser Maßnahme in der Massentierhaltung (2-13).

Den wirtschaftlichen Gesichtspunkten stehen gesundheitliche Bedenken gegenüber:

Vor allem in der Massentierhaltung spielt der nutritive Antibiotikaeffekt, d.h. eine Verbesserung sowohl des Wachstums als auch der Futterverwertung, wirtschaftlich eine wichtige Rolle. Nicht zuletzt auch deshalb, weil neben der Wachstumswirkung, die als "Mehransatz von Geweben normaler Zusammensetzung in der gleichen Zeiteinheit" definiert wird, und der Verminderung des Futters pro erzeugte Einheit Fleischansatz, eine Verringerung der Aufzucht-

verluste und eine geringere Wachstumsvariabilität im Bestand erzielt wird.
Auf der anderen Seite können aber bis heute verschiedene Gefahrenmöglichkeiten nicht ausgeschlossen werden.

Folgende Bedenken werden aufgeführt:

1. Da alle bisher in der Nutztierfütterung verwendeten Antibiotika zugleich auch in der Human- und Tiertherapie eingesetzt werden, bestünde die Gefahr einer Resistenzbildung, die eine nötige Therapie mit Antibiotika erschweren oder unmöglich machen könnte.
2. Wegen der Resorption dieser Antibiotika im Digestionstrakt sei mit Rückständen im Fleisch von Schlachttieren, pharmakologischen Nebenwirkungen und Allergisierung beim Menschen zu rechnen.

Aus diesen Gründen versuchte man mit der Bevorzugung schwer resorbierbarer Antibiotika eine Kompromisslösung anzustreben.
Trotzdem wurde ein "ideales" Antibiotikum gefordert, das neben dem erwünschten ernährungsphysiologischen Effekt folgende Bedingungen erfüllen sollte:

1. Möglichst gerinfügige Resorption aus dem Magen-

Darmtrakt.

2. Keine chemische Veränderung während der Passage durch das Tier und damit leichte Bestimmbarkeit von eventuellen Rückständen.

3. Keine Antigen- oder Hapteneigenschaften, die zu Allergien führen könnten.

4. Keine Anwendung in der Human- und Tiertherapie.

5. Kein Auftreten einer Kreuzresistenz gegen eines der therapeutisch eingesetzten Antibiotika.

6. Homogene Mischbarkeit mit Futtermitteln.

A II. Angaben über das Antibiotikum Flavomycin:

Ein Antibiotikum, das den oben genannten Forderungen weitgehend entspricht, wurde in den Farbwerken Hoechst isoliert. Man bezeichnete es mit dem wissenschaftlichen Namen Moenomycin und gab es nach jahrelanger experimenteller Prüfung nur für den Einsatz in der Nutztierfütterung unter der Bezeichnung Flavomycin frei.

II.1. Wirkungstyp und Wirkungsspektrum:

Flavomycin wird von Streptomyces bambergiensis,

Streptomyces (S.) ghanaensis, S. geysiriensis und S. ederensis produziert (14).
Es wirkt nur auf proliferierende Keime; vorwiegend bakteriostatisch durch Hemmung der Zellwandsynthese (15).
Das Wirkungsspektrum umfaßt insbesondere grampositive Mikroorganismen. Staphylococcus aureus, Streptokokken der serologischen Gruppen A,B und C und Erysipelothrix erweisen sich als hochempfindlich. Sensibel sind ferner Pneumokokken, Neisserien, Corynebakterien, Bazillen sowie Brucellen und Pasteurellen. Weniger empfindlich sind Streptokokken der serologischen Gruppe D (Enterokokken). Kaum beeinträchtigt werden Enterobacteriaceae, Clostridien und Pseudomonasarten sowie Mycobakterien, Candida und höhere Pilze. Protozoen- und Virusinfekte werden durch Flavomycin chemotherapeutisch nicht beeinflußt (16).

II.2. Resistenzverhalten:

Für Flavomycin wurde bisher keine resistenzerzeugende Wirkung auf Darmbakterien nachgewiesen. Ebenfalls konnte durch Flavomycin keine Beeinflussung der bakteriellen Resistenzentwicklung gegenüber anderen gebräuchlichen Antibiotika festgestellt werden (17,18).

II.3. Chemische Zusammensetzung:

Flavomycin gehört zu einer bisher unbekannten Antibiotikagruppe.

Die Elementaranalyse ergab: C (48,5 %), H (7,3 %), O (37,3 %), N (5,1 %) und außerdem 1,8 % Phosphor, der in den bisher beschriebenen Antibiotika kaum zu finden war (19). Ein Mindestmolekulargewicht von 1700 wurde bestimmt.

Chemisch handelt es sich um ein phosphorhaltiges Glycolipid. Die Strukturformel konnte noch nicht vollständig geklärt werden. Als Hauptbestandteile der Zuckerfraktion wurden D-Glucosamin, D-Glucose und der Aminozucker D-Chinovosamin bestimmt. Neben diesen drei Zuckern wurde in der Neutralzuckerfraktion eine weitere stark reduzierende zuckerähnliche Substanz aufgefunden, ferner eine ebenfalls zuckerähnliche Säure, deren Struktur noch unbekannt ist. Diese Zuckerbestandteile sind zu einer Oligosacharideinheit verknüpft. Über den Aminozucker Chinovosamin ist mit dieser Einheit ein "Chromophor" verbunden, der sich als N-Acetyl - 2-amino-cyclopentan- 1,3-dion erwies. Dieser "Chromophor" ist für ein UV-Spektrum von Flavomycin verantwortlich, das bei pH 7 ein Maximum bei 258 nm zeigt.

Zu der Oligosacharideinheit gehören auch Phosphormoleküle, die offenbar in Form von Phosphosäurediester - Gruppierungen vorliegen.
Der Lipidteil beträgt 20 % des Moleküls. Nach Säurehydrolyse ergeben sich drei Komponenten: Moenocinol, Isomoenocinol und Moenocen, wobei wahrscheinlich als natives Produkt im Flavomycin nur Moenocinol eingebaut ist, während die beiden anderen Stoffe unter den sauren Bedingungen der Hydrolyse entstanden sein dürften (19 - 21).

II.4. Resorbierbarkeit und Verhalten im Organismus:

Laut Angaben der Herstellerfirma ist oral verabreichtes Flavomycin in nutritiven Dosen nicht resorbierbar. Da das Antibiotikum aus einem hydrophilen Zucker- und einem hydrophoben Lipidteil besteht neigt es stark zur Bildung von hochmolekularen Aggregaten. Diese im physiologischen pH-Bereich stattfindende Assoziation von Flavomycinmolekülen zu hochmolekularen Produkten wird hauptsächlich für die Nichtresorbierbarkeit verantwortlich gemacht (19,22). Lediglich bei sehr hohen Überdosierungen (1000mg pro kg Körpergewicht) kann eine geringe Resorption nachgewiesen werden (max.0,02 % des verabreichten Antibiotikums)(23).

Aus diesem resorbierten wie auch intravenös applizierten Flavomycin entstehen weder im Blut noch in den Organen Metaboliten. Das Flavomycin wird als intaktes Molekül durch den Harn ausgeschieden (23). Auf Grund dieser Tatsache wäre in der Niere mit den zuerst erscheinenden und höchsten Rückständen zu rechnen. Bei einem Fütterungsversuch (Masthähnchen) wurden bis zu 875 mg Flavomycin / kg Futter - das entspricht einer ca. 87-fachen Gebrauchsdosierung - keine Rückstände in den Nieren festgestellt; erst bei 1100 mg Flavomycin / kg Futter ergaben sich messbare Rückstände (12 mcg/g Gewebe; (23)).

II. 5. Pharmakologie und Toxikologie:

Nach parenteraler Flavomycinverabreichung wurden pharmakologische und toxikologische Nebenwirkungen festgestellt. Da jedoch nach den pharmakologischen Befunden eine Resorption im Magen-Darmtrakt unwahrscheinlich ist, entspricht das Flavomycin auch in dieser Hinsicht den einleitend erwähnten Anforderungen (siehe A I.; (24,25)).

II.6. Mischbarkeit und Stabilität:

In der Tierernährung kommt Flavomycin nicht in Reinsubstanz zur Anwendung, sondern in Form des sprühgetrockneten Mycels.
Die nutritive Dosis für Kükenstarterfutter beträgt 4-16 mg aktives Flavomycin pro kg Futter (26).
Siebanalysen zur Feststellung der Teilchengröße und eine Untersuchung des elektrostatischen Verhaltens ergaben eine gute Verteilung im Mischfutter. Versuche mit Futtermittelproben handelsüblicher Zusammensetzung zeigten, daß in Fertigfutter eingemischtes Flavomycin auch nach 2 1/2jähriger Lagerung bei Zimmertemperatur voll erhalten ist.
Im Eiweißkonzentrat und in einer Mineralstoffmischung wurde der Anfangsgehalt nach 7 1/2monatiger Lagerung ebenfalls zu 100% wiedergefunden (26).

A III. Theorien über die Ursachen des nutritiven Antibiotikaeffektes:

III.1. Beeinflussung der Darmflora als mögliche Ursache der Wachstumserhöhung:

Verständlicherweise suchte man zuerst die wachstumsfördernde Wirkung in einer Beeinflussung der Darmflora. Bekräftigt wurde diese Theorie durch den Zusammenhang des nutritiven Antibiotikaeffektes mit dem jeweiligen "Stresslevel" (Catron (27)), d.h. der Güte des Nährstoffangebotes und der Umweltverhältnisse. Je günstiger diese Bedingungen sind, desto geringer kommen die Fütterungsantibiotika zur Wirkung und umgekehrt.

Als Hauptargument für diese Theorie, diente das völlige Fehlen eines nutritiven Antibiotikaeffektes beim keimfreien Tier (28-30).

H o h l s (31) konnte nachweisen, daß durch Antibiotikazulagen ein Defizit an tierischem Eiweiß in der Diät ausgeglichen werden kann.
K l a u s (32) gelang es sowohl durch orale Penecillin- als auch Aureomycinzulagen bei Schweinen eine bessere Verdaulichkeit von Roheiweiß zu erreichen.

Außerdem wird die Einsparung wasserlöslicher Vitamine durch Antibiotikazufütterung als Erhöhung der enteralen Vitaminsynthese gedeutet (33-35) .

Diese Ergebnisse verdeutlichen, daß Antibiotikagaben nicht nur hygienisch ungünstige Haltungsbedingungen, sondern auch gewisse Mängel in der Futterzusammensetzung ausgleichen können.
Die Tatbestände werden mit der antibakteriellen Wirkung der Antibiotika in Verbindung gebracht.

Zahlreiche Arbeiten beschäftigten sich mit dem Problem der spezifischen Darmfloraveränderung durch Antibiotika. Eine Unterstützung symbiotisch günstiger und eine Unterdrückung schädlicher Keime ist das gemeinsame Resultat dieser Untersuchung. Eine Vermehrung von coliformen Keimen und Laktobazillen (36-38)(das Verhältnis dieser Keimgruppen verschiebt sich zugunsten der Coliformen), also für den Organismus günstiger Darmsymbionten und eine Eliminierung toxinbildender ubiquitär vorkommender Clostridien (39,28) durch Antibiotikabeifütterung konnte nachgewiesen werden.
Durch die Vermehrung symbiotisch günstiger Keime- Escherichia coli besitzt die Fähigkeit essentiel-

le Aminosäuren und Vitamine zu synthetisieren - wäre eine Wachstumssteigerung möglich. Ebenso könnte die Ausmerzung von schädlichen Darmbakterien ursächlich zu der Wachstumssteigerung beitragen. S c h o l e (40) bezeichnet deshalb diese Wirkungsmöglichkeit als "indirekten Stoffwechseleffekt der Antibiotika", da durch spezifische Antibiose negativer Keime die Abwehr- und Entgiftungsfunktionen des Wirtsorganismus entlastet würden.

III.2. Steigerung der enteralen Resorption als mögliche Ursache des nutritiven Antibiotikaeffektes:

G o r d o n (41) stellte bei normal gefütterten keimfreien Küken fest, daß die Wände des Dünndarms und Blinddarms um ein Drittel bis um die Hälfte dünner waren als die der konventionell gehaltenen Kontrolltiere. Ähnliche Resultate erhielt er bei konventionellen Küken, die im Gegensatz zu ihren Kontrollen Penecillin- oder Terramycinzulagen im Futter bekamen.
C o a t e s wies nach, daß das Gewicht des Darmtraktes keimfreier Küken bei gleicher Länge um

17% geringer ist als bei den konventionell gehaltenen Kontrolltieren (41).

S t o k s t a d (42) erklärt diese Beobachtungen damit, daß der Darm des ohne Antibiotikazusätzen ernährten konventionellen Tieres durch kleinste Verletzungen im Lumen und darauf folgende Infektionen dauernd gereizt wird, wodurch es zu einer permanenten Entzündung (= Verdickung) der Darmwand kommt. Eine Verminderung der schädlichen Darmbakterien durch Antibiotikazufütterung oder die völlige Ausschaltung der Bakterien bei keimfreien Tieren heben die Einflüsse auf. Daraus soll eine bessere Resorption von Vitaminen, Mineralstoffen usw. und damit die Wachstumssteigerung und Futtersparwirkung resultieren.

B r o i t m a n (43) stellte bei Ratten den Einfluß von Neomycin auf die intestinale Resorption von Glukose fest.

Aus den Untersuchungen von R i e d e l , S c h a r r e r und L ö s c h (44) geht aber hervor, daß zwischen keimfrei und konventionell gehaltenen Küken keine Unterschiede bezüglich des aktiven intestinalen Aminosäurentransportes bestehen.

Außerdem zeigten Versuche der genannten Autoren (45) keine Unterschiede im aktiven intestinalen Aminosäurentransport und der Glukosereserption sowohl zwischen keimfrei gehaltenen Küken mit und ohne Flavomycinzulage im Futter als auch zwischen den beiden konventionellen Tiergruppen auf. Ebenso stellten sie zwischen diesen keimfreien und konventionellen Küken keine diesbezügliche Abweichung fest.

III.3 Wirkungsentfaltungen der Fütterungsantibiotika jenseits des Verdauungstraktes als mögliche Ursache des nutritiven Effektes:

Versuche mit inaktivierten Antibiotika führten zu der Vorstellung, daß die antibakteriellen Wirkstoffe nicht nur durch ihre Beeinflussung von Bakterien wachstumswirksam werden können. T s c h i d e r e r (46) erhielt bei einem Schweinemastversuch mit inaktiviertem Penicillin trotz optimaler Fütterung bessere Mastleistungsergebnisse der Versuchstiere gegenüber den Kontrolltieren.

S z i l v i n y i berichtet von Versuchen mit Schweinen, bei denen aktives und inaktiviertes Penicillin

die gleiche Wachstumserhöhung verursachten (47).
H a l a m a konnte bei Küken mit laugeninaktivierten Na-Penicillin-G- Zusätzen im Futter eine Wachstumssteigerung um 16 % erreichen (48).
D i c k und Mitarbeiter (49) erzielten durch orale und parenterale Verabreichung inaktivierter und aktiver Antibiotika an Ratten, die mit einer Vitamin B_{12}-armen Diät gefüttert wurden, in den meisten Fällen eine gleiche Anregung auf das Wachstum.
Die Ergebnisse dieser Versuche können mit der "Darmfloratheorie" nicht erklärt werden. H a l a m a fand aber für dieses Phänomen keine eindeutige Begründung.
Nach B r ü g g e m a n n und Mitarbeitern (50) ist das Hauptargument der "Darmfloratheorie" - die fehlende Wachstumssteigerung der Antibiotika beim keimfreien Tier - nicht stichhaltig. Sie betonen, daß wegen der fehlenden Darmflora, die eine Erhöhung des "Stress-level" darstellt, keimfrei gehaltene Tiere an sich schon besser wachsen als konventionelle.
In der Tat wachsen keimfrei gehaltene Küken um 10 - 20% besser als ihre konventionell gehaltenen

Kontrollen (29,5%).
Wenn die keimfreien Tiere durch den Wegfall der Darmflora diese Vergünstigung schon in Anspruch genommen haben, ist verständlicherweise kein weiterer Effekt durch Antibiotika zu erwarten (52).
Da sich eine Belastung des Organismus in einer Verschiebung des hormonellen Status — insbesondere des Verhältnisses Wachstumshormon (STH) + Insulin / Nebennierenrinden - (NNR-) Hormon — zugunsten der katabolen, also Körpersubstanz einschmelzenden Stoffwechselabläufe auswirkt (50), weisen keimfrei gehaltene Tiere eine geringere NNR - Funktion auf (53).
Auch der stark reduzierte Gamma - Globulinspiegel keimfreier Tiere deutet auf eine herabgesetzte Abwehrnotwendigkeit hin (54 - 57).
Wenn nun Antibiotika das Konventionaltier gewissermaßen durch Veredelung der Darmflora zum "Teilsteriltier" werden lassen, so müßten entsprechende Veränderungen zu erwarten sein (52).
Das Gegenteil dieser Annahme wurde von
B r ü g g e m a n n , S c h o l e u. K a r g (58)
nachgewiesen. Sie stellten fest, daß bei oraler Verabreichung nutritiv wirksamer Aureomycindosen

an Ratten ein stimulierender Einfluß auf die Nebennierenrinde ausgeübt wird.
Nach K a r g (59) ist die Erhöhung der NNR - Funktion bei Aureomycinzufütterung nicht mit einer zu erwartenden Thymusinvolution verbunden. Das Thymusgewicht erhöht sich sogar gegenüber den entsprechenden Kontrollen.
Da bei Konventionaltieren mit Antibiotikazulagen im Futter die erhöhte NNR-Funktion weder eine Wachstumsdepression noch eine Involution des Thymus` zur Folge hat, muß nach S c h o l e (40) die Stoffwechselfunktion der NNR-Hormone durch Antibiotika ausgeglichen werden, d.h. diese Wirkstoffe stehen in einem direkten Antagonismus zu den NNR-Hormonen.

S c h o l e nimmt deshalb an, daß die Fütterungsantibiotika nach ihrer Resorption den intermediären Stoffwechsel als unspezifische wachstumsfördernde Substanzen, etwa im Sinne eines anabolen Hormons, direkt beeinflussen.
Nach S c h o l e (40) werden mitochondriale Flavinenzyme durch die Hormone der NNR stimuliert. Diese sogenannten gelben Fermente besitzen als

"Schrittmacherenzyme" eine Schlüsselstellung im Mitochondrienstoffwechsel. Zu diesen Fermenten zählen die D - und L - Aminosäureoxydase (Oxydative Desaminierung), die Acyldehydrogenasen (Fettsäureoxydation), die Bernsteinsäuredehydrogenase (Zitronensäurezyklus) und die in der Atmungskette zwischen NAD - H und Cytochrom-c eingeschaltete NAD - H - Cytochrom c - Reduktase.
Das Wachstumshormon (STH) und Insulin erweisen sich als Inhibitoren dieser Enzyme.
Tatsächlich konnte S c h o l e (40) bei einem Versuch mit Ratten, die im Futter eine Zulage von 100 ppm Aureomycin erhielten, eine Hemmung der Aminosäureoxydase, Butyryldehydrogenase und Cytochrom c - Reduktase nachweisen.

In diesem Zusammenhang ist außerdem die Stellung von Thyroxin im intermediären Stoffwechsel von Bedeutung. Dieses Hormon steuert in der Atmungskette durch Einstellung einer bestimmten Oxydationsgeschwindigkeit für Cytochrom c die Schnelligkeit des Elektronentransportes zum Sauerstoff (60). Eine gesteigerte Aktivität des Thyroxins bedeutet deshalb laut S c h o l e (40) ein erhöhtes Energieangebot für Synthesevorgänge im Organismus.

Versuche,die vor allem mit Tetracyclinen durchgeführt wurden, weisen auf eine Beeinflussung der Schilddrüse durch diese Wirkstoffe hin. S c h o l e (40) stellte eine Zunahme der Thyroxinwirksamkeit an der Atmungskette nach Aureomycinzufütterung fest.
Von einem interessanten Versuch mit Küken berichteten C h i h - Y u n H s ü und Mitarbeiter (61). Von 3 Tiergruppen erhielt die erste Normalfutter, die zweite zusätzlich Aureomycin und die letzte inaktiviertes Aureomycin. Sowohl bei der 2. als auch bei der 3.Gruppe stellte sich histologisch eine Hyperplasie und Hypertrophie sowie verstärkte Mitosehäufigkeit der Schilddrüsen heraus. Ebenso war das Verhältnis von I^{131} der Schilddrüse zu I^{131} im Blutplasma bei den Antibiotikagruppen größer als bei den Kontrolltieren.

Obwohl alle diese Ergebnisse die Ursache des nutritiven Antibiotikaeffektes in ein anderes Licht rückten, konnte das Argument der fehlenden Antibiotikawirkung beim keimfreien Tier nicht völlig widerlegt werden.

B r ü g g e m a n n , M e r k e n s c h l a g e r,

Schmidt, Riedel und Schole (50,62) versuchten deshalb, das Wachstum keimfreier Küken ohne Antibiotikazufütterung durch intramuskuläre Injektionen sterilisierter Milch auf das Wachstumsniveau von Konventionaltieren zu senken. Die Tiere mit Aureomycinzulage im Futter konnten die mit den gleich hohen Injektionsdosen verursachte Wachstumsdepression abfangen. Kontrollversuche mit konventionellen Küken ergaben ähnliche Befunde.

Außerdem wurden die Aktivitäten der erwähnten Flavinenzyme und die Geschwindigkeit der Cytochrom - c - Oxydation (Maß für die Schilddrüsenfunktion) in den Leberhomogenaten bestimmt. Beim keimfreien Tier zeigte sich eine signifikant niedrige NADH - Cytochrom - c - Reduktaseaktivität (Testenzym für die NNR - Wirksamkeit) als beim Konventionaltier. Die Belastung durch Sterilmilch führte bei den keimfreien Küken zu einer signifikanten Erhöhung der Reduktaseaktivität und zu einer Beschleunigung der Cytochrom - c - Oxydation, Durch nutritive Aureomycinzulagen wurden diese Veränderungen ausgeglichen.

Die angeführten Ergebnisse verdeutlichen, daß die Fütterungsantibiotika auch beim keimfreien Tier,

also völlig unabhängig von einer mikrobiellen Besiedlung, zur Wirkung kommen.

Aus den bisher aufgeführten Daten geht hervor, daß Flavomycin den eingangs aufgestellten Bedingungen für ein "ideales" Fütterungsantibiotikum weitgehend entspricht.
In der vorliegenden Arbeit sollte untersucht werden, ob die Wirksamkeit von Flavomycin ausschließlich auf das Darmlumen beschränkt ist, oder ob resorbierte Spuren von Flavomycin, die im Gewebe nicht erfaßt werden können, doch einen anabolen Effekt hervorrufen.

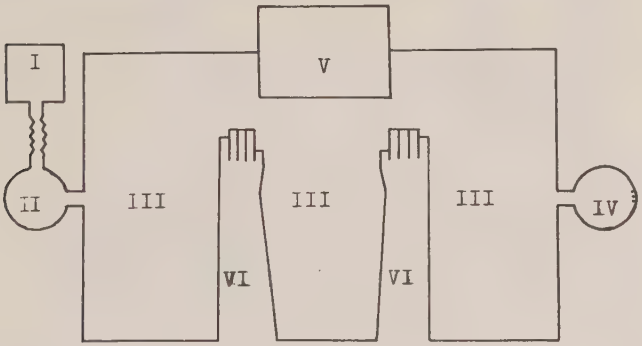
Diese Frage konnte nur durch Versuche mit keimfreien Tieren geklärt werden. Es sollte geprüft werden, ob durch Flavomycinzulagen zur Diät keimfreier Küken eine künstlich hervorgerufene Wachstumsdepression abgefangen werden kann.

B MATERIAL UND METHODIK:

I. Bau und Funktion der Keimfreiisolatoren:

Zur Haltung der keimfreien Küken dienten 6 Plastikisolatoren nach T r e x l e r (120 x 60 x 60 cm). Diese standen in einem temperierbaren und mit einem Luftfeuchtigkeitsregler ausgestatteten Raum.

Abb.1: Schematischer Aufbau eines Isolators:

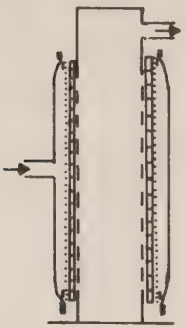


I. Elektrisches Gebläse
II. Luftfilter
III. Isolatorinnenraum
IV. Luftauslaß
V. Schleuse
VI. Gummihandschuhe

Mit Hilfe eines elektrischen Gebläses (I) gelangt

kontinuierlich Außenluft über einen zylindrischen Glaswollfilter (II) in den Isolatorinnenraum (III).

Abb.2: Schematischer Aufbau eines Luftfilters:



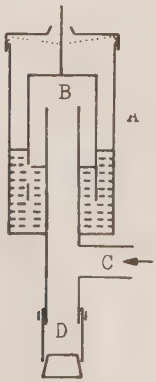
Von innen nach außen:

Perforierter Filterrahmen mit Luftauslaßnippel, Filtermaterial, feinmaschiges Drahtgeflecht, schlauchartige PVC-Hülle mit Zuluftnippel.

(nach H e i n e (63)).

Die verbrauchte Luft verläßt durch den ebenfalls an der Außenseite der Keimfreieinheit montierten Luftauslaß (IV) den Isolator.

Abb.3: Schematischer Schnitt durch einen Luftauslaß:



A. Gehäuse aus Plexiglas mit Siebkappe und Deckel verschlossen.

B. Innenbecher mit Führungsdraht und dreieckiger Luftauslaßöffnung.

C. Luftauslaßrohr zum Anschluß an den Isolator.

D. PVC-Nippel mit Gummistopfen verschlossen.

(nach H e i n e (63)).

Das zylindrische Plexiglasgehäuse des Luftauslasses ist mit je 200 ml "Paraffin dünnflüssig" (Merck) und Glycerin, sowie mit 2 g eines Desinfektionsmittels (Laudacit, quarternäre Ammoniumbase +) gefüllt. dadurch wird der ausströmenden Luft ein gewisser Widerstand entgegengesetzt, der einem leichten Überdruck (ca. 5 Torr) im Isolatorinnenraum hervorruft. Gleichzeitig verhindert die Flüssigkeit den Rückstau von keimhaltigen Außenluft in die Isolatorkammer.
An der Längsseite einer Keimfreieinheit befindet sich die zylindrische Schleuse (V). Diese wird nach außen und innen von je einer Plastikkappe luftdicht verschlossen. Gegenüber der Schleuse sind 2 armlange Gummihandschuhe (VI), in die Isolatorwand montiert, die das Hantieren im Innenraum des Isolators ermöglichen.

II. Montage eines Plastikisolators:

Nach Montage von Schleuse und Handschuhen wird mit einem Gasdetektor die Dichte der Kammer überprüft. Zuluft - und Abluftöffnung sind dabei provisorisch mit je einem Gummipfropfen verschlossen.

+E. Merck A.G. Darmstadt

Die im Autoklaven mit Gas (Gemisch aus Äthylenoxyd + CO_2) vorsterilisierten Einzelteile der Plexiglaskäfige und die in einer Plastikfolie eingeschweißte Waage werden im Kammerinnenraum mit 2%iger Peressigsäure (CH_3COOOH) abgesprüht. Bei diesem Arbeitsgang wird zugleich der Innenraum des Isolators desinfiziert.
Nach H e i n e (63) stellt die Peressigsäure in der Gnotobiotechnik das geeignetste Desinfektionsmittel dar, da ihr vollständiger Zerfall in molekularen Sauerstoff, Essigsäure und Wasser keine Gefahr für die Versuchstiere mit sich bringt.

Der mit drei Lagen Glaswollmatten und einer feinmaschigen Drahtmanschette umwickelte Luftfilterrahmen (siehe Abb.2) wird im Trockenschrank bei 180°C über 6 Stunden entkeimt. Anschließend wird er luftdicht mit einer schlauchartigen PVC-Hülle umgeben und mit dem Gebläse und der Keimfreieinheit verbunden. Darauf erfolgt die Montage des Luftauslasses.
Nach erneuter Desinfektion der Kammer und der Schleuse mit Peressigsäure wird die Einheit aufgeblasen. Sobald diese durch den Luftstrom ge-

trocknet ist, werden darin die zwei Käfige aufgebaut.

III. Tiermaterial und Gewinnung keimfreier Küken:

Die Versuche wurden teils mit Küken der Mastrasse Nichols-Lohmann, teils mit Küken des Stammes B 975 (Lohmann) durchgeführt. Die Geschlechter der Versuchstiere konnten nicht berücksichtigt werden, da das Sexen der Tiere in den Plastikisolatoren nicht durchzuführen war.

Um für die Gruppeneinteilung in jeder Keimfreieinheit möglichst gleich schwere Tiere zu erhalten wurden die Bruteier vor dem Einlegen nach Gewicht sortiert. Außerdem war es nötig, die Eier vor dem Brutbeginn mit 2%iger Peressigsäure oberflächlich zu desinfizieren, um die Gefahr des Einwachsens von Keimen durch die Schale während des Bebrütens möglichst zu unterbinden. Aus demselben Grund wurde der Brüter vor dem Einlegen der Eier mit einem Desinfektionsmittel ausgesprüht.

Die am 7. Bruttag durch das Schieren ermittelten unbefruchteten und abgestorbenen Eier wurden aus dem Brüter entfernt.

Nach 18-tägiger Vorbrut wurden die Bruteier noch-

mals geschiert. Anschließend wurden je 24 Eier in die sechs Keimfreiisolatoren überführt, in denen die Schlupftemperatur von ca.37,2°C herrschte. Dabei mußten sie in der Schleuse mit Peressigsäure nochmals oberflächlich desinfiziert werden. Nach einer Einwirkungsdauer von 15 Minuten kamen sie in den Isolatorinnenraum.
Da durch die Zerfallsprodukte der Peressigsäure sowohl auf den Schalenoberflächen als auch im Isolator für einige Zeit erhöhte Feuchtigkeit herrschte, wurde bis zum Schlupf die Luftfeuchtigkeit absichtlich niedrig gehalten. R i e d e l (64) stellte in Versuchen mit keimfreien Küken eine bessere Schlupfrate bei "normaler" Luftfeuchtigkeit fest als bei einer Luftfeuchtigkeit um 90%, die in einem Brüter herrscht. Ebenso beobachtete er, daß auf Grund der Manipulation mit Peressigsäure nur knapp die Hälfte der in die Einheit überführten Eier zum Schlupf kamen. Deshalb mußten 24 Eier in jede Einheit eingeschleust werden, obwohl nur 12 Versuchstiere pro Einheit benötigt wurden.

IV. Haltung und Fütterung:

Überzählig geschlüpfte Küken und nicht ausgebrü-

tete Eier wurden nach Beendigung des Schlupfes aus dem Isolator geschleust.
Die Haltung der Tiere erfolgte in Käfigen aus Plexiglas auf Metallgitter.
Nach dem Schlupf wurde die Temperatur auf 32°C einreguliert und bis zum jeweiligen Versuchsende auf 25°C verringert. Die relative Feuchtigkeit der Außenluft betrug vom Schlupf an ca.60%. Die Räume waren durchgehend (24-stündig) beleuchtet.

2 Tage nachdem die Mehrzahl der Küken geschlüpft war, erfolgte die erste Fütterung. Wegen der zeitlichen Streuung des jeweiligen Schlupfes - der meistens zwei Tage andauerte - wurde der 1.Fütterungstag als 1. Lebenstag festgesetzt. Sowohl sterilisiertes Futter als auch sterilisiertes Wasser wurden ad libitum verabreicht. Als Futter diente eine halbsynthetische Diät. Der Hälfte des Futters wurde das flavomycinhaltige Mycel beigemengt. Da Kontrolluntersuchungen autoklavierter Futterproben einen Aktivitätsverlust des Antibiotikums von 10% ergaben, wurde die entsprechende Menge des Mycels mehr eingemischt. Der Flavomycingehalt der Diät wurde vor und nach der Sterilisierung mikro-

biologisch überprüft.

Das Futter war im unsterilisierten Zustand wie folgt zusammengesetzt:

Maisstärke	45 %
Sojaprotein	35 %
Sojaöl, raffin.	10 %
Mineralsalzmischung	6 %
Vitaminvormischung	2 %
Zellulose	2 %

Mineralsalzmischung in g/kg Endfuttermischung:

$CaCO_3$	15	Eisencitrat	0,45
$Ca_3(PO_4)_2$	14	$MnSO_4 \cdot H_2O$	0,45
K_2HPO_4siccum	10	$ZnCO_3$	0,04
NaCl	8	$CuSO_4 \cdot 5 H_2O$	0,02
Na_2HPO_4siccum	7	KJ	0,04
$MgSO_4 \cdot 7 H_2O$	5		

Die Konzentration an Vitaminen und Methionin betrugen vor der Sterilisation pro kg Endfutter:

Vitamin A	5000 IE	Pantothensäure	13,3 mg
Vitamin D_3	560 IE	Nicotinsäure	36,0 mg
Vitamin E	60 mg	Biotin	0,14 mg
Vitamin K_1	1,2mg	Folsäure	1,60 mg
Thiamin	25 mg	Vitamin B_{12}	0,02 mg
Pyridoxin	4,0mg	DL-Methionin	3,00 g
Riboflavin	7,0mg	Cholin	2,00 g

Die hohen Vitamin- und Methioninzusätze waren wegen der Sterilisationsverluste nötig. Analytische Bestimmungen ergaben folgende Verluste:
Vit. A 25%, Vit. E 35%, Thiamin 50%, Riboflavin 25%, Pantothensäure 20%, Nikotinsäure 5%, Cyanocobalamin 20%, Cholin 0%, Methionin 33%.
Das Futter wurde in Stoffsäckchen zu je 100 g Portionen abgefüllt, in gekennzeichneten Plastikfolien eingeschweißt und 5 Minuten im Autoklaven bei 134°C sterilisiert. Das Wasser wurde in Glasflaschen abgefüllt, diese ebenfalls eingeschweißt und 20 Minuten bei 134°C sterilisiert.

V. Sterilitätskontrolle der Keimfreiisolatoren:

Zur Sterilitätskontrolle dienten Kotproben solcher Tiergruppen, deren Futter kein Flavomycin enthielt. Zweimal wöchentlich wurden diese Proben mit verschließbaren, sterilen Plexiglasröhrchen aus jedem Isolator entnommen. Von jeder Kotprobe wurde eine Gramfärbung angefertigt und mikroskopisch untersucht. Fleisch - Casein - Pepton - Hefeextrakt - Dextroseagar, "Sabouraud"- Dextroseagar und Thioglykolat - Bouillon wurden beimpft und bei 25, 37 und 51°C eine Woche lang bebrütet.

Erwies sich eine Einheit als infiziert wurde sie aus dem Versuch genommen.
Die Untersuchung auf Mycoplasmen und nachweisbare Viren erfolgte im Institut für Krankheiten des Haus- und Wildgeflügels der Universität München.+ Dazu wurde jeweils am Versuchsende aus jedem Isolator willkürlich ein ohne Antibiotikumzulage gefüttertes Tier gewählt. Alle Untersuchungen verliefen negativ. Anzeichen anderer Virusinfektionen wurden während der Versuche nicht beobachtet.

VI. Versuchsanstellung:

In jedem der 6 Plastikisolatoren waren, wie schon erwähnt (siehe S.25), 2 Käfige aufgebaut. Jeder dieser Käfige wurde mit 6 Küken besetzt; diese wurden mit steriler Farbe gekennzeichnet. Die Versuchstiere des einen Käfigs je Isolator bekamen Futter ohne Flavomycinzulage, die des anderen Käfigs Futter mit Flavomycinbeimischung angeboten. Alle Küken wurden täglich gewogen. Die Versuchstiere eines jeden Käfigs wurden in jeweils 2 Gruppen mit ungefähr gleichem Gewicht eingeteilt. Jeweils einer dieser Gruppen pro Käfig wurde ab ei-

+ Frau Dr.Gerlach möchte ich für diese Untersuchungen besonders danken.

nem bestimmten Zeitpunkt (siehe Tab.2) in 24-stündigen Abständen Sterilmilch mit einer Tuberkulinspritze in die Brustmuskulatur injiziert.

Demnach standen pro Versuch vier Tiergruppen zur Verfügung. Diese wurden folgendermaßen bezeichnet:

Tabelle 1:

1. Kontrollgruppe (K)
2. Kontrollgruppe + Milchinjektion (K+)
3. Flavomycingruppe (F)
4. Flavomycingruppe + Milchinjektion (F+)

Die Sterilisierung der Milch erfolgte im Autoklaven bei 134°C über 5 Minuten.

Insgesamt wurden 8 Versuche durchgeführt. Aus der Tab.2 sind für jeden Versuch die Flavomycinzulagen, die Injektionszeitpunkte und die Injektionsdosen ersichtlich.

Außerdem wurde noch ein Konventionalisierungsversuch mit einer Kontroll (K) - und einer Flavomyvingruppe(F) (10ppm) durchgeführt. Die Konventionalisierung erfolgte am 5.Lebenstag. Von diesem Zeitpunkt an erhielten beide Tiergruppen Futter ohne die Antibiotikumzulage.

Tab.2: Übersicht der Versuchsanordnung

Versuch	Flavomycinzulage (ppm)	Gruppen	Injektionszeitpunkt (Leb.Tage)	Injektionsdosis (ml Milch)
1	0	K+	11/12/13/14	0,1/0,1/0,3/0,3
		K		
	1	F+	11/12/13/14	0,1/0,1/0,3/0,3
		F		
2	0	K+	11/12/13/14	0,1/0,1/0,3/0,3
		K		
	1	F+	11/12/13/14	0,1/0,1/0,3/0,3
		F		
3	0	K+	4/5/6/7	0,1/0,1/0,3/0,3
		K		
	1	F+	4/5/6/7	0,1/0,1/0,3/0,3
		F		
4	0	K+	4/5/6/7	0,1/0,3/0,5/0,5
		K		
	1	F+	4/5/6/7	0,1/0,3/0,5/0,5
		F		
5	0	K+	5/6/7/8/9	0,1/0,3/0,3/0,4/0,4
		K		
	10	F+	5/6/7/8/9	0,1/0,3/0,3/0,4/0,4
		F		
6	0	K+	5/6/7/8/9	0,1/0,3/0,3/0,4/0,4
		K		
	10	F+	5/6/7/8/9	0,1/0,3/0,3/0,4/0,4
		F		
7	0	K+	5/6/7/8/9	0,1/0,3/0,3/0,4/0,4
		K		
	10	F+	5/6/7/8/9	0,1/0,3/0,3/0,4/0,4
		F		
8	0	K+	5/6/7/8/9	0,1/0,3/0,5/0,5/0,5
		K		
	10	F+	5/6/7/8/9	0,1/0,3/0,5/0,5/0,5
		F		

•siehe Tab.1

C Ergebnisse:

Der Übersichtlichkeit wegen ist der Wachstumsverlauf der Kontroll- bzw. Flavomycingruppen getrennt abgebildet. Die Wachstumskurven stellen die arithmetischen Mittelwerte der Einzelgewichte dar.

Versuch 1 und 2:

Injektionszeitpunkt: 11./12./13./14. Lebenstag
Injektionsdosis : 0,1/0,1/0,3/0,3 ml Sterilmilch
Flavomycinzulage : 1 mg pro kg sterilisiertes Futter

Bei Versuch 1 und 2 standen nur je 5 Isolatoren zur Verfügung.
Aus den Abb. 4a und 4b ist das Wachstum der 4 Tiergruppen von Versuch 1 und 2 ersichtlich.
24 Stunden nach der 1. Milchinjektion von 0,1 ml zeigen die Kontrolltiere (K+) eine deutliche Wachstumsdepression gegenüber der Kontrollgruppe (K), die keinem Stress ausgesetzt wurde. Im Gegensatz dazu bewirkt der gleiche Stress bei den mit Flavomycinzulage gefütterten Küken (F+) nur eine geringe Erniedrigung der Gewichtszunahmen verglichen mit den Flavomycintieren ohne Milchinjektion (F).

Ähnliche Resultate sind am 13. und 14. Lebenstag zu erkennen. Vom 14. zum 15. Lebenstag sind keine Wachstumsunterschiede der 4 Gruppen mehr festzustellen.
Diese Ergebnisse konnten jedoch nicht statistisch gesichert werden.

Versuch 3:

Injektionszeitpunkt: 4./ 5./ 6./ 7./ Lebenstag
Injektionsdosis : 0,1/0,1 / 0,3/0,3ml Sterilmilch
Flavomycinzulage : 1 mg pro kg sterilisiertes Futter

Für den 3. Versuch konnten nur 5 Einheiten gewertet werden, da in einem Isolator am Versuchsende eine Kontamination mit Streptokokken festgestellt wurde.

Die Wachstumskurven dieses Versuchs sind in den Abb. 5a und 5b wiedergegeben.
Die Küken der K+ Gruppe reagierten nach der 1. Milchinjektion mit einer Wachstumsdepression. Die folgenden Injektionen konnten keine weitere Verminderung des Wachstums hervorrufen.
Die Flavomycintiere (F+) beantworteten die 1. Injektion ebenfalls mit einer Wachstumsdepression, vom

5. auf den 6. Tag dagegen mit einer Wachstumssteigerung gegenüber den Flavomycinküken ohne Injektion (F). Die beiden letzten Milchinjektionen führten wieder zu einer Wachstumsdepression.

Versuch 4:

Injektionszeitpunkt: 4./ 5./ 6./ 7. Lebenstag
Injektionsdosis : 0,1 /0,3 /0,5 /0,5 ml Sterilmilch
Flavomycinzulage : 1 mg pro kg sterilisiertes Futter

Wegen einer Kontamination mit Streptokokken konnten wiederum nur die Ergebnisse von 5 Isolatoren gewertet werden. Diese sind in den Abb. 6a und 6b dargestellt. Der Verlauf der Kurven ist in der Tendenz ähnlich wie im 3. Versuch. Einem bis zum 7.Lebenstag kontinuierlich abfallendem Wachstum der K+ Gruppe stehen bei den Küken mit Flavomycinzulage im Futter (F+) sowohl Wachstumszunahmen als auch -depressionen gegenüber.

Versuch 5, 6 und 7:

Injektionszeitpunkt: 5./ 6./ 7./ 8./ 9.Lebenstag
Injektionsdosis :0,1 /0,3 /0,3 /0,4 /0,4ml Sterilmilch
Flavomycinzulage : 10 mg pro kg sterilisiertes Futter

Da die Versuche 5, 6 und 7 unter identischen Bedingungen durchgeführt wurden, sind die Ergebnisse als Gesamtheit ausgewertet worden.
In Versuch 5 war je eine Keimfreieinheit mit Streptococcus faecalis bzw. mit Bacillus subtilis kontaminiert. Somit konnten die Ergebnisse von nur insgesamt 16 Isolatoren ausgewertet werden.
Die Flavomycinzulage betrug bei diesen Versuchen das Zehnfache der vorher verwendeten Dosis.

Das Ergebnis dieser Versuchsserie ist aus den Abb. 7a, 7b und 8 ersichtlich. Der Verlauf der Wachstumskurven zeigt wieder eine deutliche Depression bei den Kontrollküken mit Milchinjektion (K+). Bei den Flavomycintieren (F+) lösten die gleich hohen Injektionsdosen einen viel geringeren Gewichtsabfall aus.
Zur Verdeutlichung dieses Wachstumsverlaufs wurde die prozentuale Wachstumsdepression sowohl der K+ als auch der F+ Gruppen bezogen auf die nicht gespritzten Kontroll- und Flavomycingruppen ermittelt (siehe Abb.8). Bei den Kontrolltieren (K+) verursachte die Injektion von 0,1 ml Sterilmilch nach 24 Stunden eine Verminderung der Gewichtszunahme

von 6% gegenüber den nichtgespritzten Kontrollküken (K). Die folgende Injektion von 0,3 ml bewirkte eine Wachstumsdepression von 19%.
Nach den nächsten Injektionen ergaben sich geringere Wachstumsdepressionen.
Die Flavomycinküken reagierten nach der Injektion von 0,1 ml Sterilmilch mit einer 2%igen Gewichts z u n a h m e . Erst die Injektion von 0,3 ml rief eine Depression von 2% hervor. Die nächste Injektion von 0,3 ml verursachte eine weitere Verringerung der Gewichtszunahme um 5%. Mit Hilfe des t - Tests konnte der Unterschied der prozentualen Wachstumsdepression der Kontrolltiere zu den mit Flavomycinzulage gefütterten Küken vom 6. auf den 7. Lebenstag mit $p < 0,02$ statistisch gesichert werden. Die Unterschiede vom 5. auf den 6. Lebenstag bzw. vom 7. auf den 8. Lebenstag konnten noch mit $p < 0,1$ bzw. $p < 0,2$ gesichert werden.

Versuch 8:

Injektionszeitpunkt: 5./ 6./ 7./ 8./ 9.Lebenstag
Injektionsdosis : 0,1 /0,3 /0,5 /0,5 /0,5ml Sterilmilch
Flavomycinzulage : 10 mg pro kg sterilisiertes Futter

Bei diesem Versuch wurde die Injektionsdosis gegenüber der oben angeführten Versuchsserie ab dem 7. Lebenstag erhöht. Wie die Abb. 9a und 9b zeigen, verursachte die stärkere Belastung sowohl bei den Kontroll- als auch bei den Flavomycinküken eine annähernd gleiche Wachstumsdepression.

Am 5. und 6. Lebenstag wurden die gleichen Milchmengen injiziert wie in den Versuchen 5, 6 und 7. Die Ergebnisse der Versuche 5 bis 8 konnten deshalb, bezogen auf diesen Zeitabschnitt, zusammen ausgewertet werden (siehe Abb.10). Dadurch wurde der Unterschied der prozentualen Wachstumsdepression der Flavomycin- und Kontrollküken statistisch noch deutlicher gesichert. Der t- Test ergab für die Differenz ein $p < 0{,}01$.

Wachstumsvergleich von Kontrollküken (K) und Flavomycinküken (F):

Die Abb.11 bzw. 12 zeigt die Wachstumskurven der Kontroll-und Flavomycintiere, die keinen Belastungen durch Milchinjektionen ausgesetzt worden waren, aus Versuch 4 bzw. 5, 6 und 7. Die Abb.13 stellt den

Wachstumsverlauf der gleichen Gruppen von Versuch 6 bis zum 15. Lebenstag dar.

Aus den Kurven ist ersichtlich, daß die keimfreien Küken mit Flavomycinzulagen im Futter keine höheren Gewichtszunahmen haben als die Kontrollen. Ihr Wachstum liegt sogar unter dem der Kontrolltiere.

Einfluß von nutritiven Flavomycindosen auf die Konventionalisierung keimfreier Küken:

Die Konventionalisierung (s.Abb.14) am 5. Lebenstag verursachte weder bei den Kontroll- noch bei den Flavomycinküken eine Wachstumsdepression.

Abb. 4a (Versuch 1 und 2)

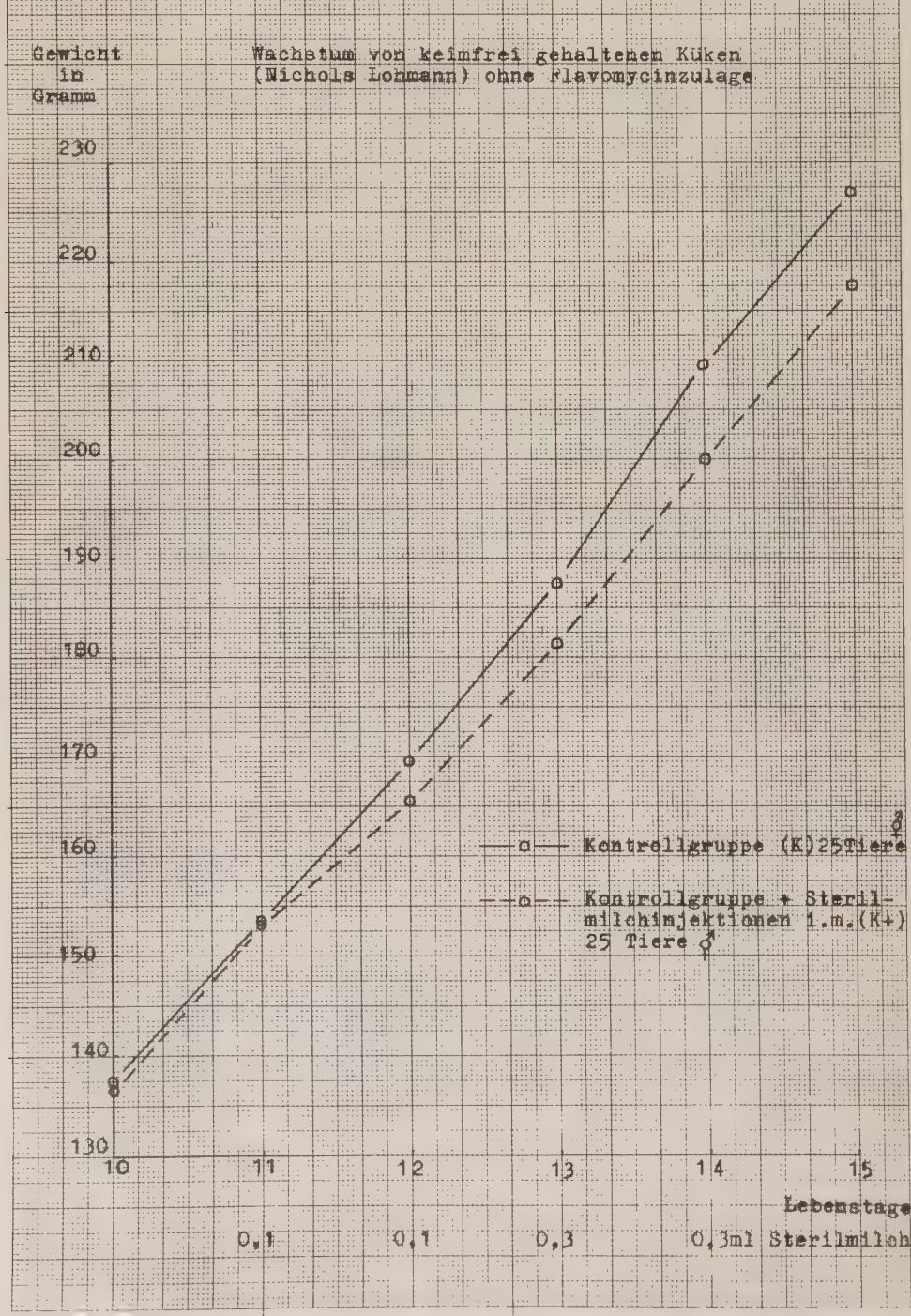


Abb.4b (Versuch 1 und 2)

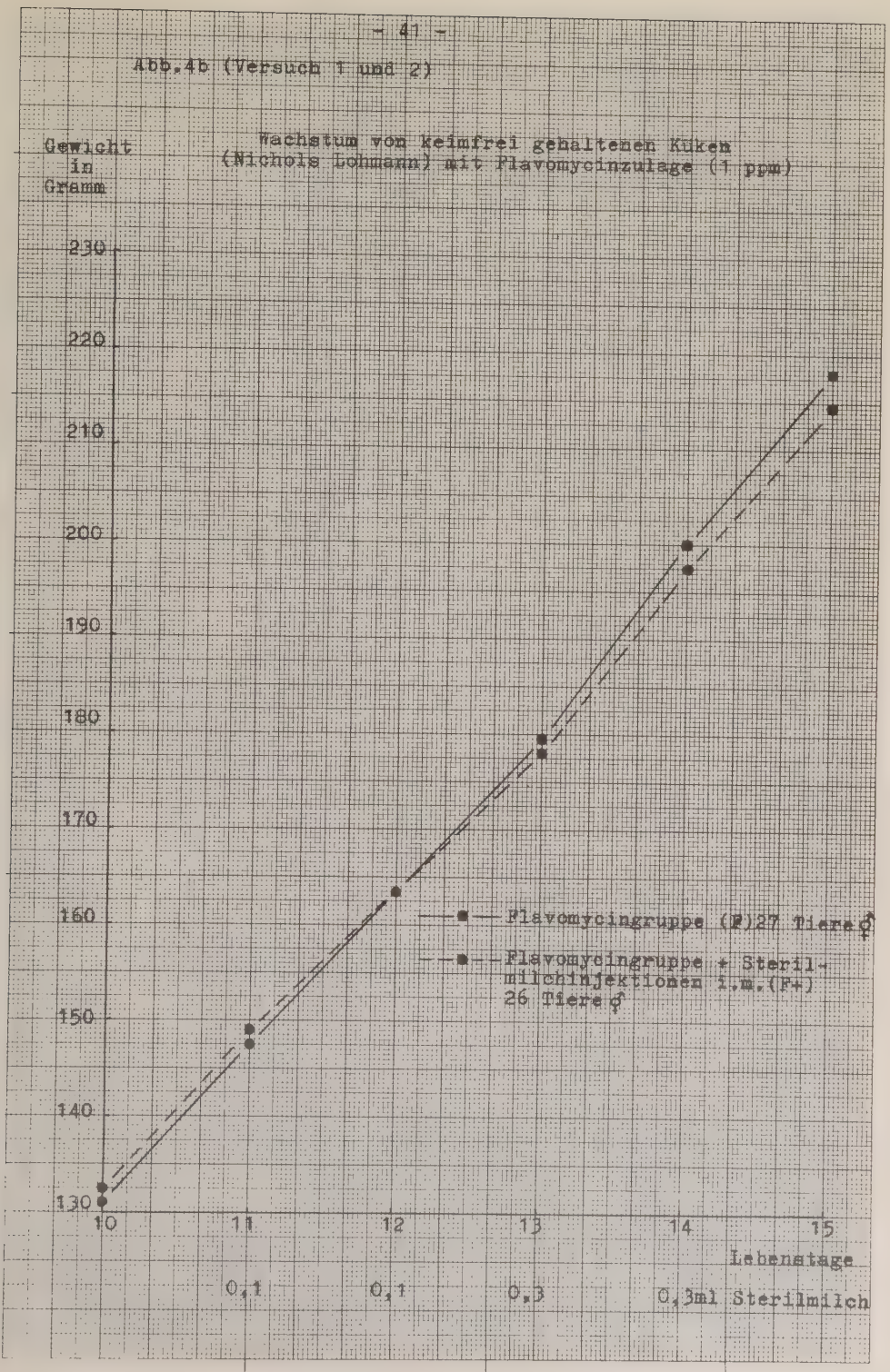


Abb.5a (Versuch 3)

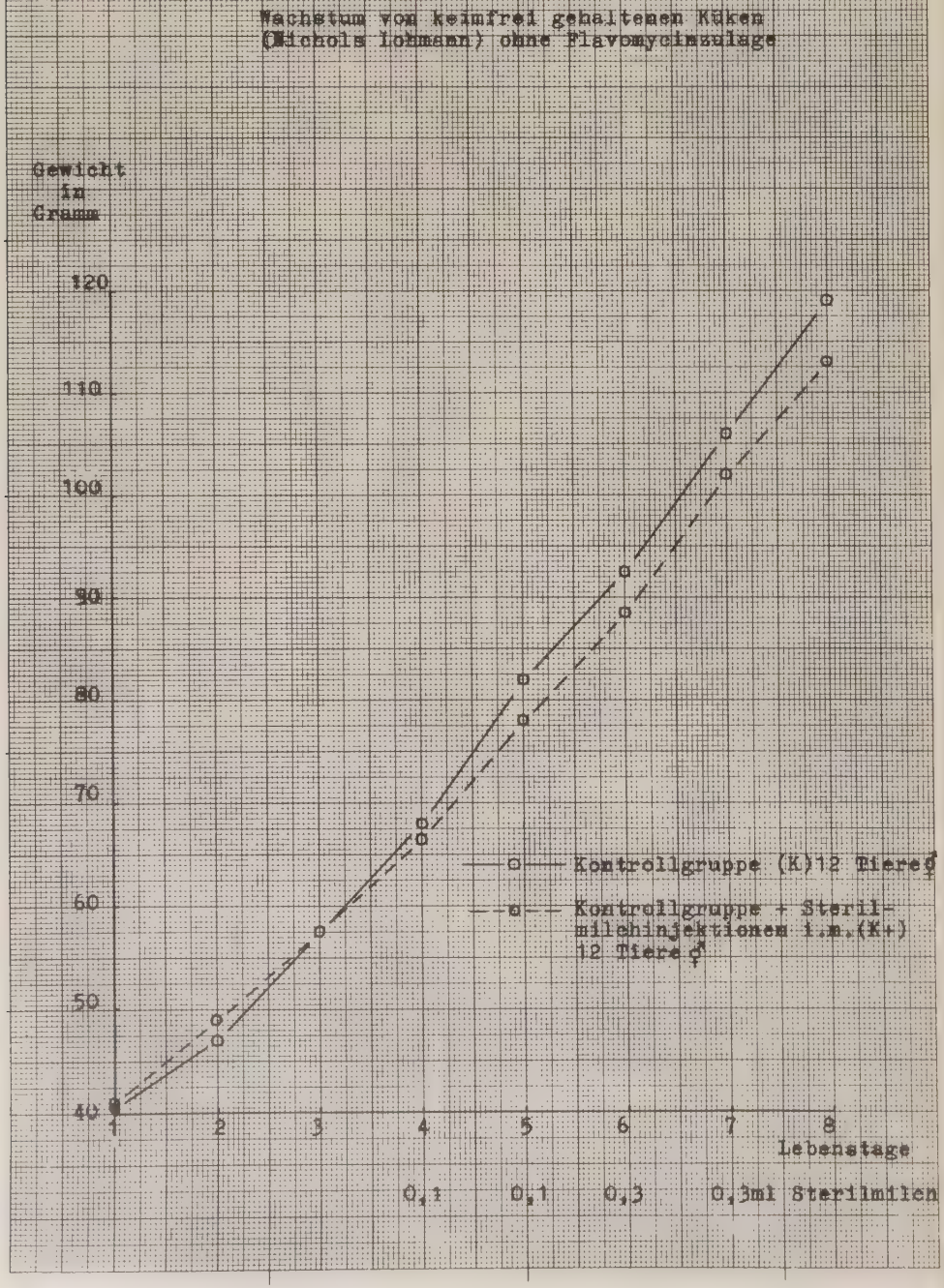


Abb.5b (Versuch 3)

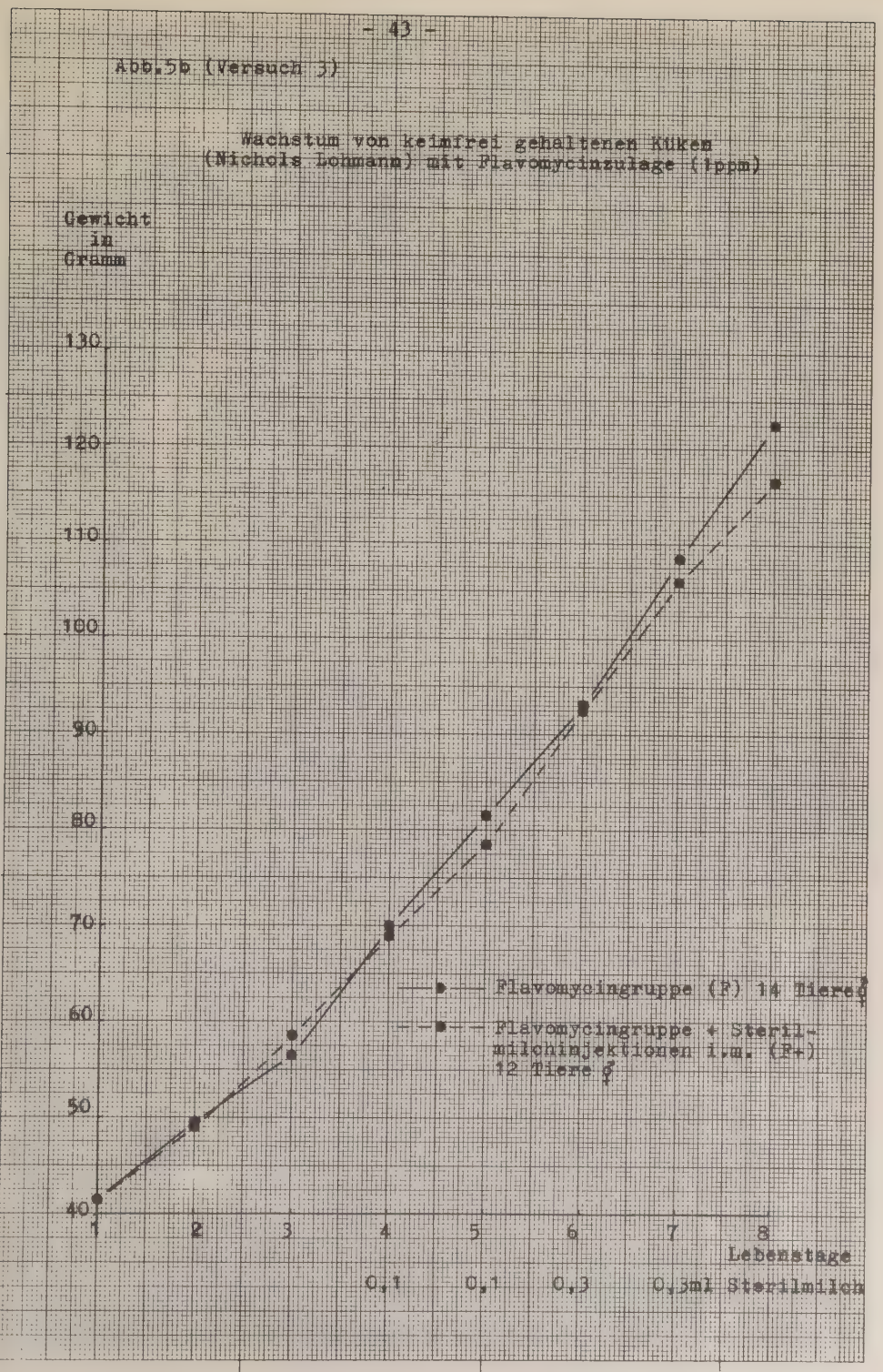


Abb.6a (Versuch 4)

Wachstum von keimfrei gehaltenen Küken (B 975, Lohmann) ohne Flavomycinzulage

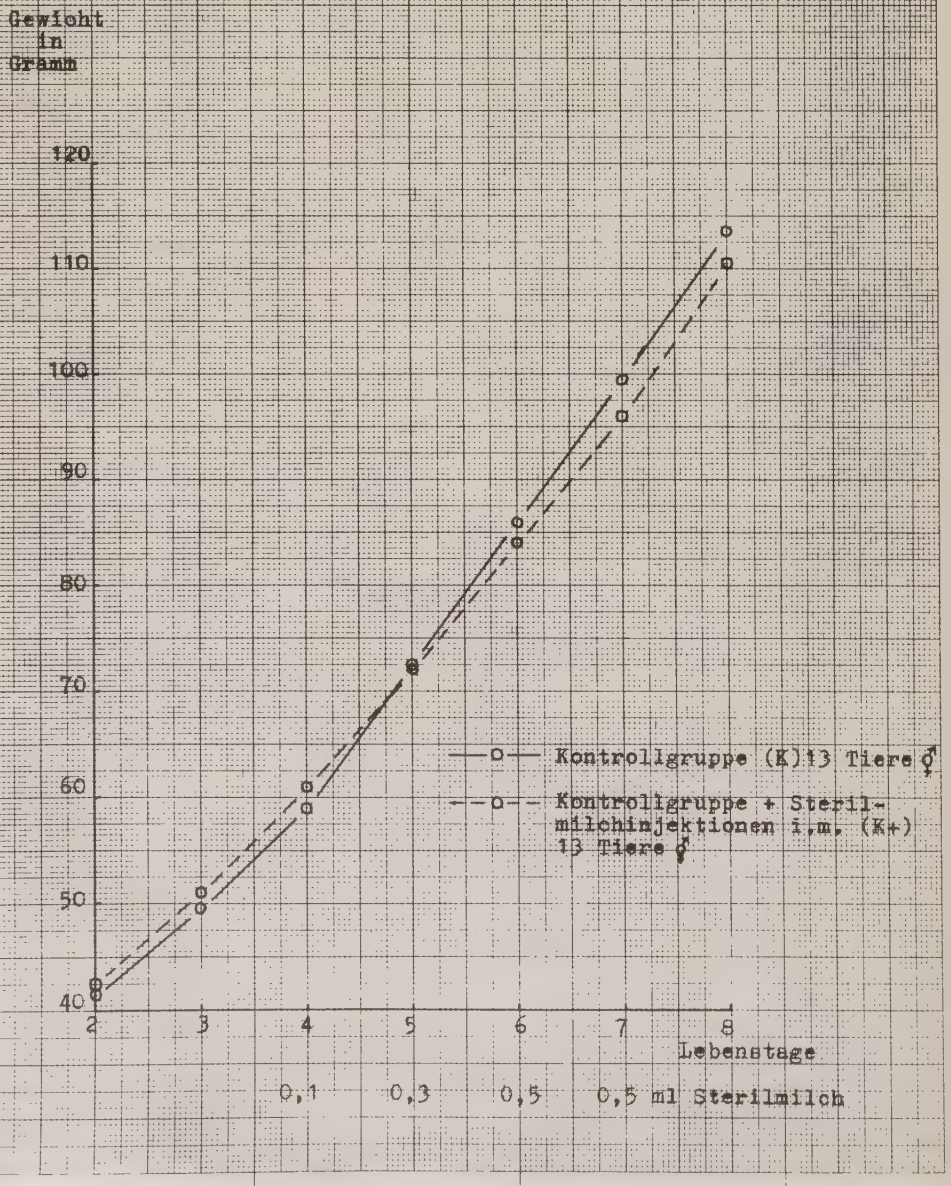


Abb.6b (Versuch 4)

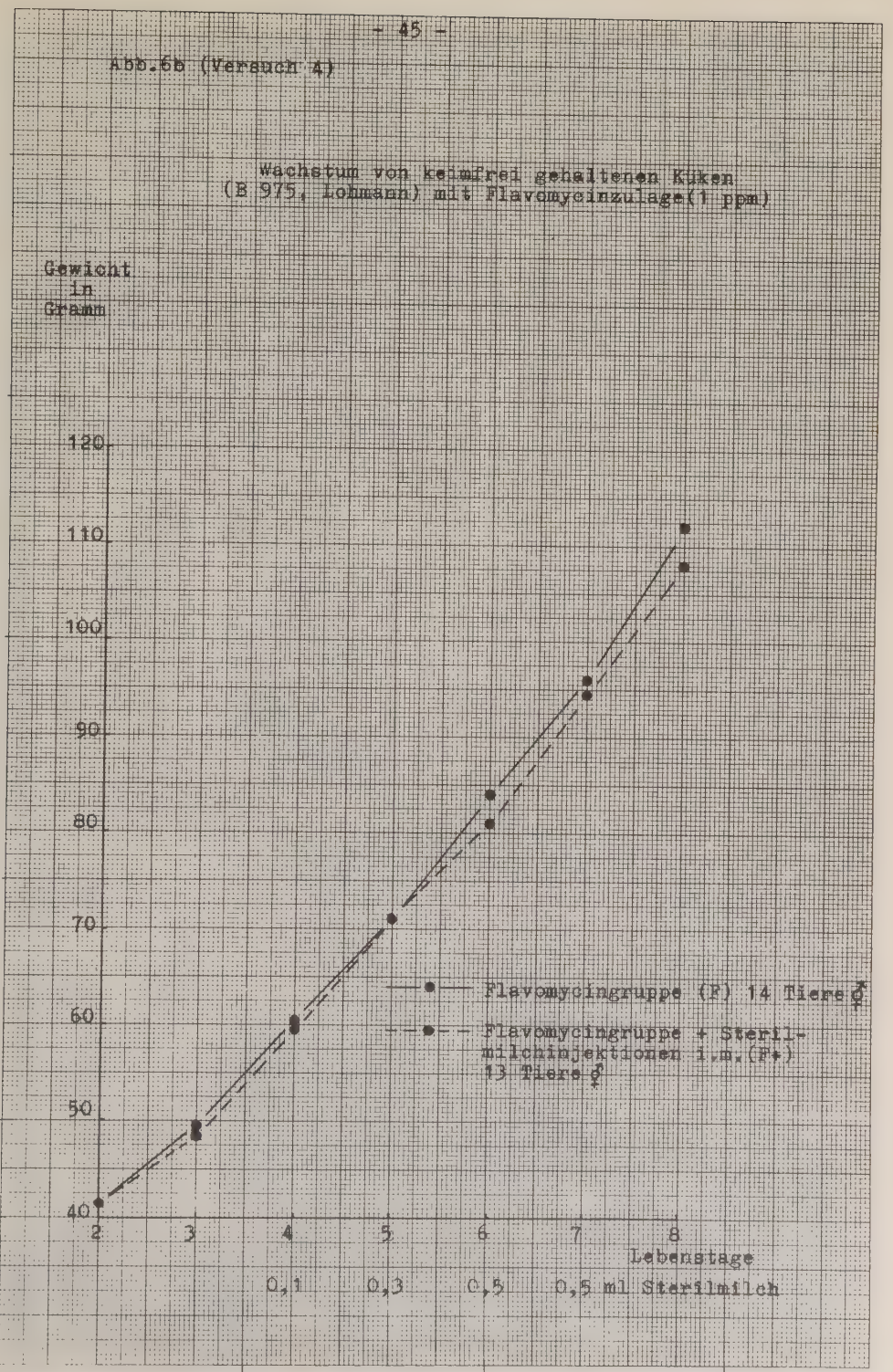


Abb.7a (Versuch 5,6 und 7)

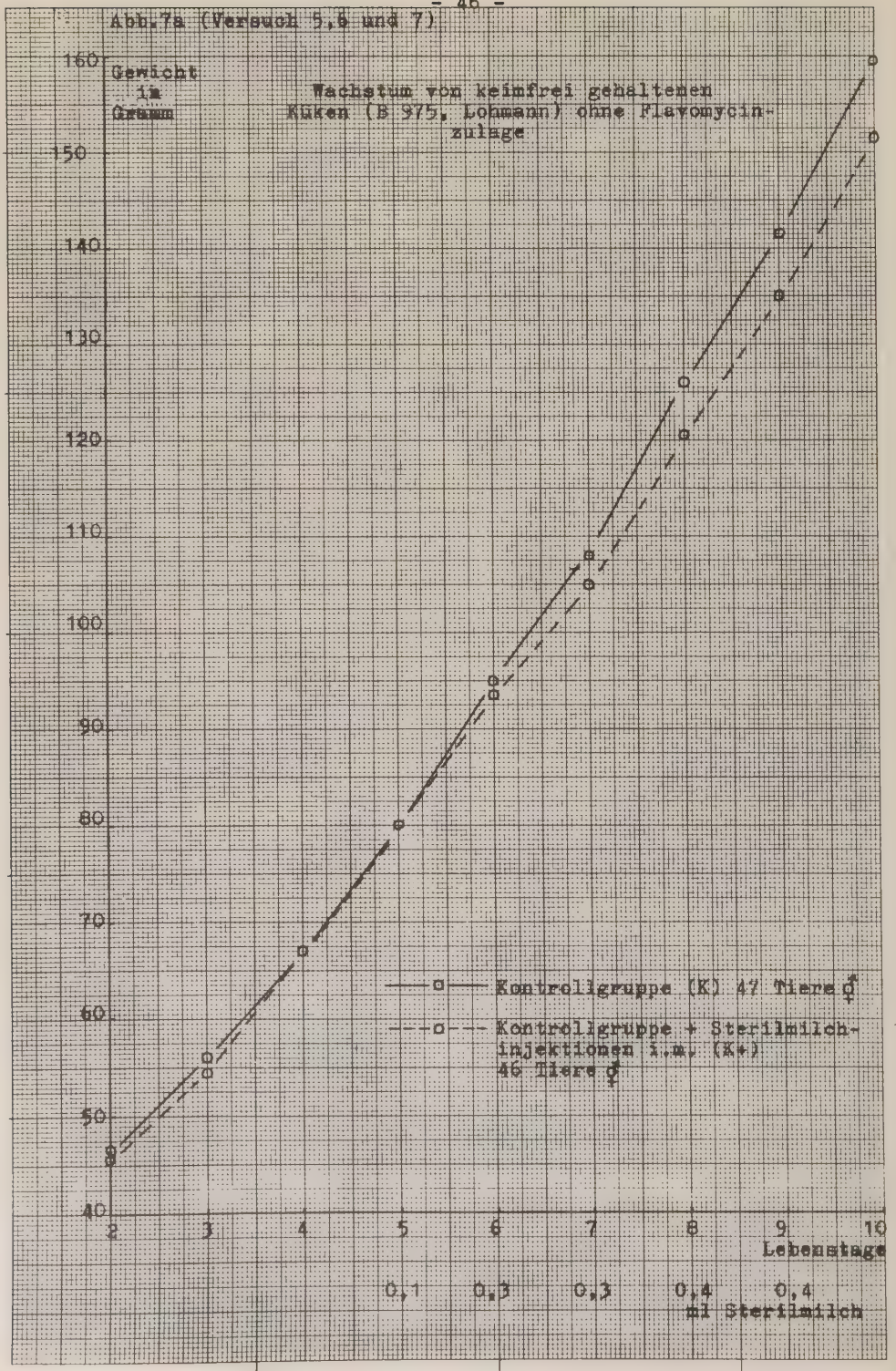


Abb.7b (Versuch 5,6 und 7)

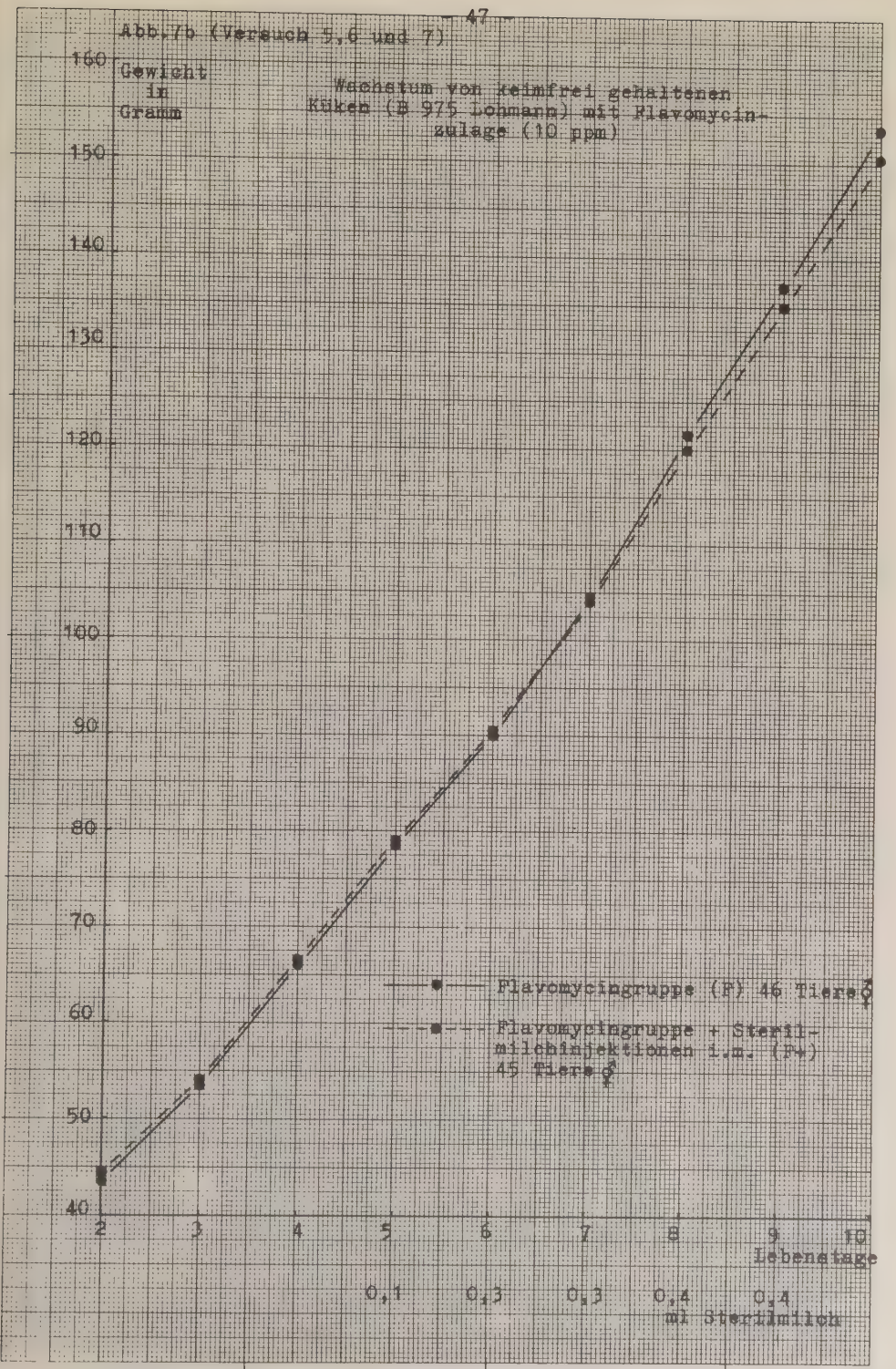
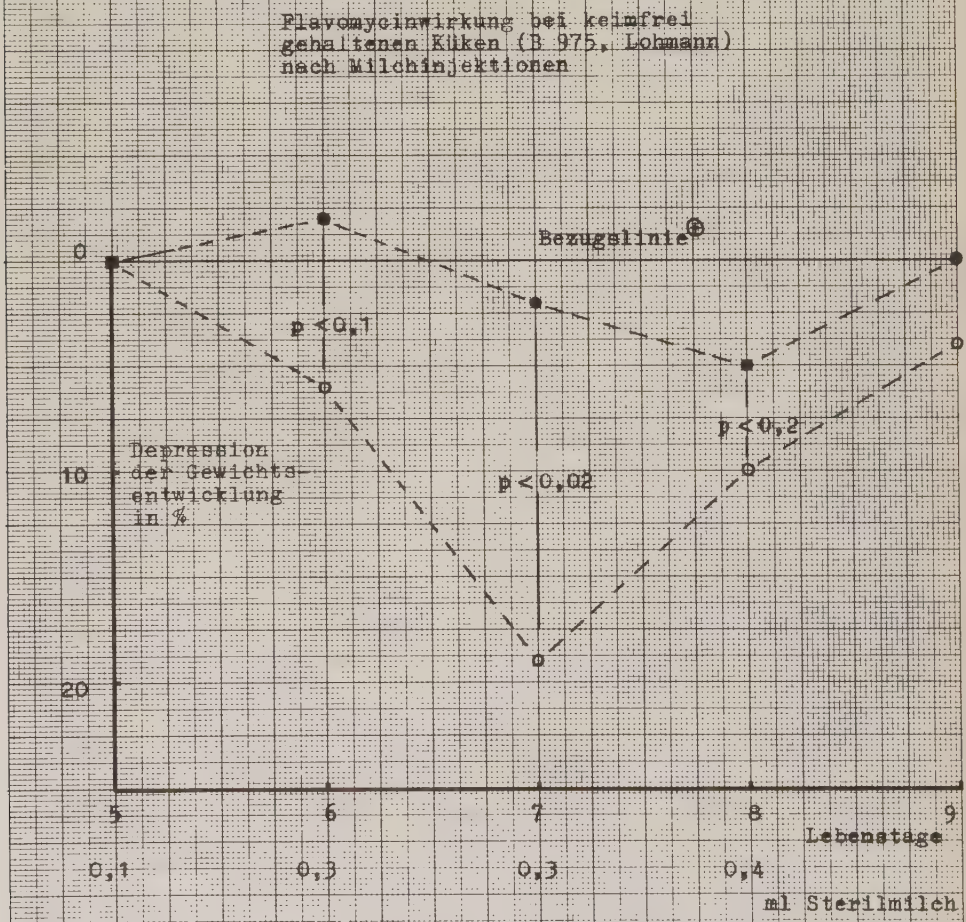


Abb. 8 (Versuch 5,6 und 7)



⊕ Die Gewichtsentwicklung der K+ bzw. F+ Gruppe wurde zu der Gewichtsentwicklung der K bzw. F Gruppe in prozentualer Beziehung gesetzt.

Abb. 9a (Versuch 8)

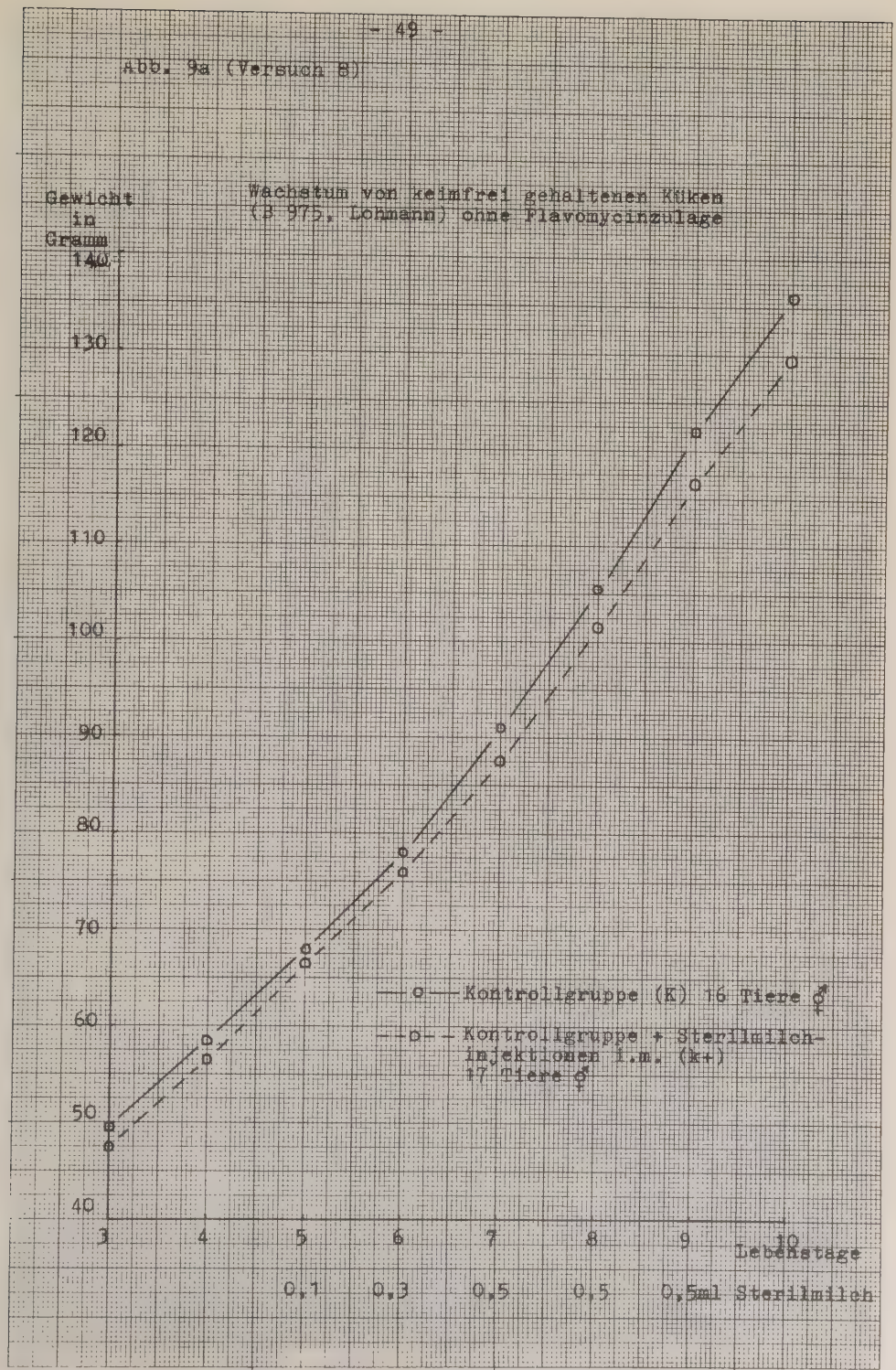


Abb. 9b (Versuch 8)

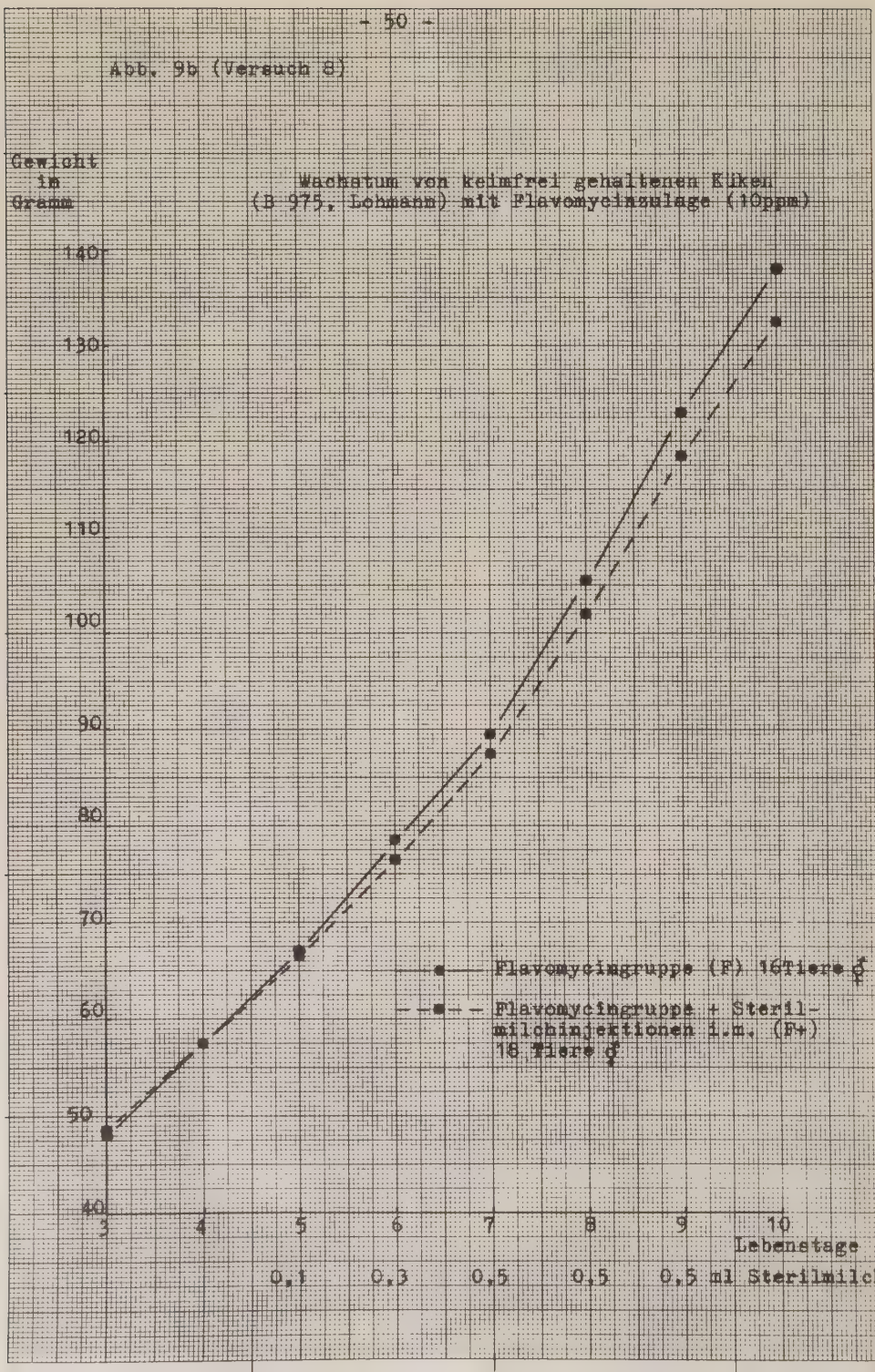
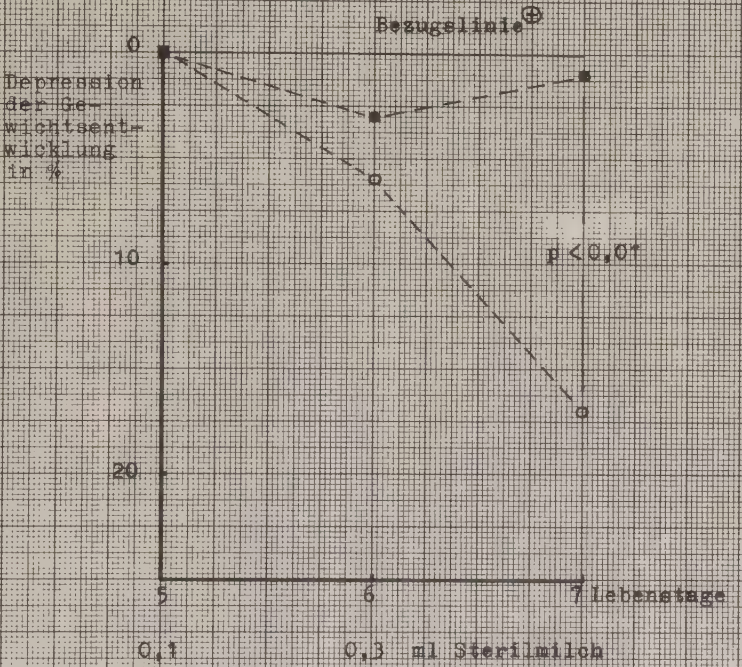


Abb.10 (Versuch 5,6,7 und 8)

Flavomycinwirkung bei keimfrei gehaltenen Küken (B 975, Lohmann) nach Sterilmilchinjektionen



---o--- Kontrollgruppe + Sterilmilchinjektionen (K+)
63 Tiere ♀

---●--- Flavomycingruppe + Sterilmilchinjektionen (F+)
63 Tiere ♀

Flavomycinzulage: 10 ppm

⊕

Die Gewichtsentwicklung der K+ bzw. F+ Gruppe wurde der Gewichtsentwicklung der K bzw. F Gruppe in prozentualer Beziehung gesetzt.

Abb.11 (Versuch 4)

Wachstum von keimfrei gehaltenen Küken (B 975,Lohmann) mit und ohne Flavomycinzulage (1ppm)

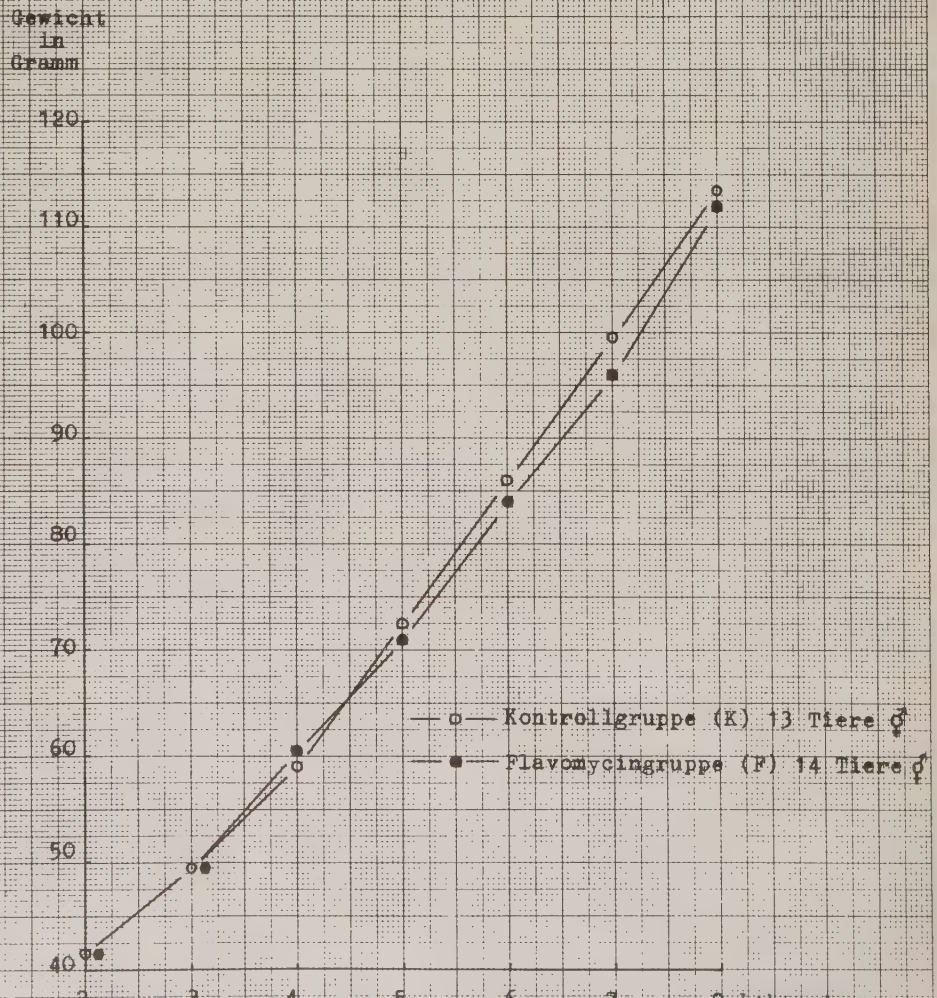


Abb.12 (Versuch 5,6 und 7)

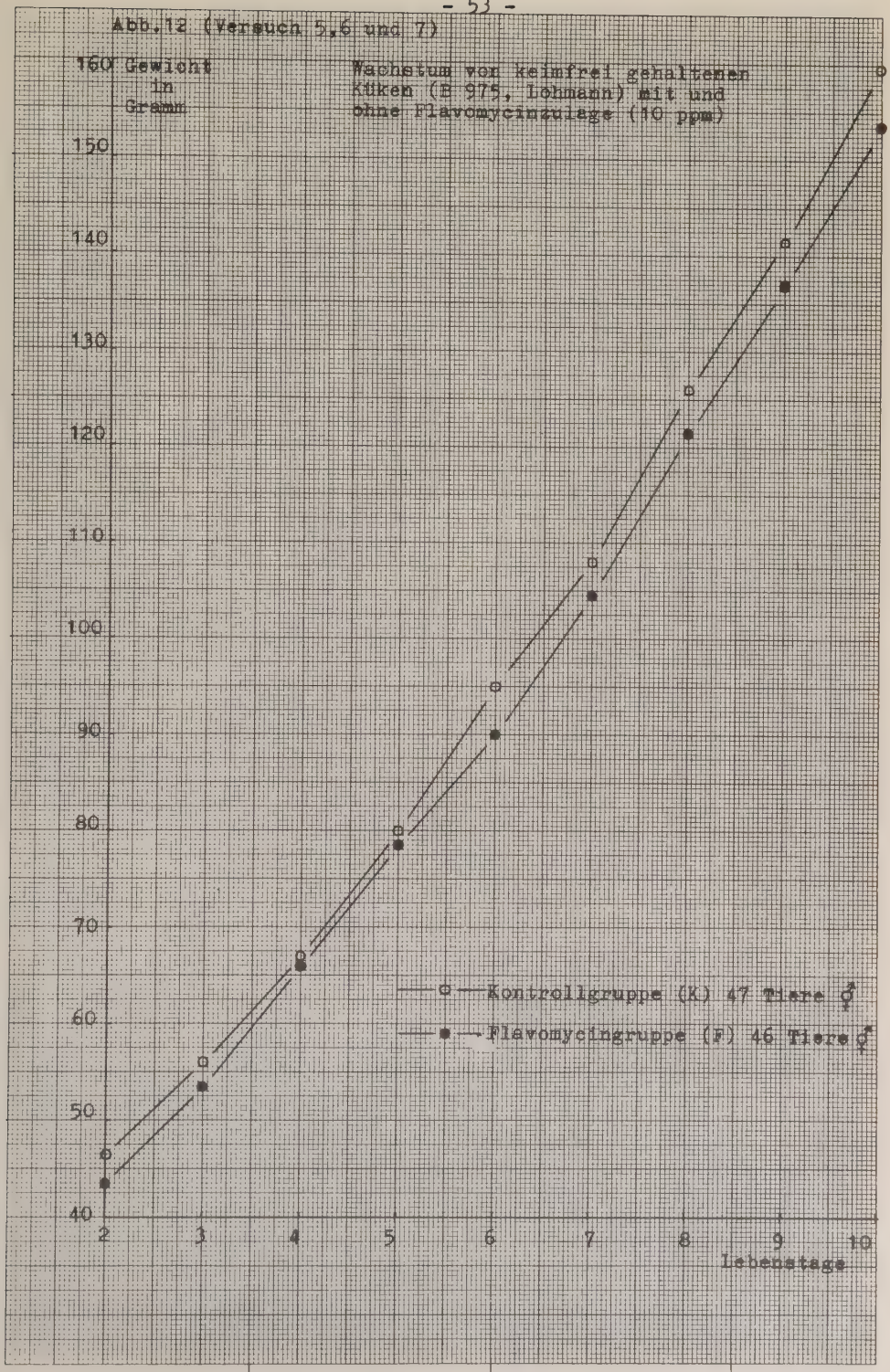


Abb. 13 (Versuch 6)

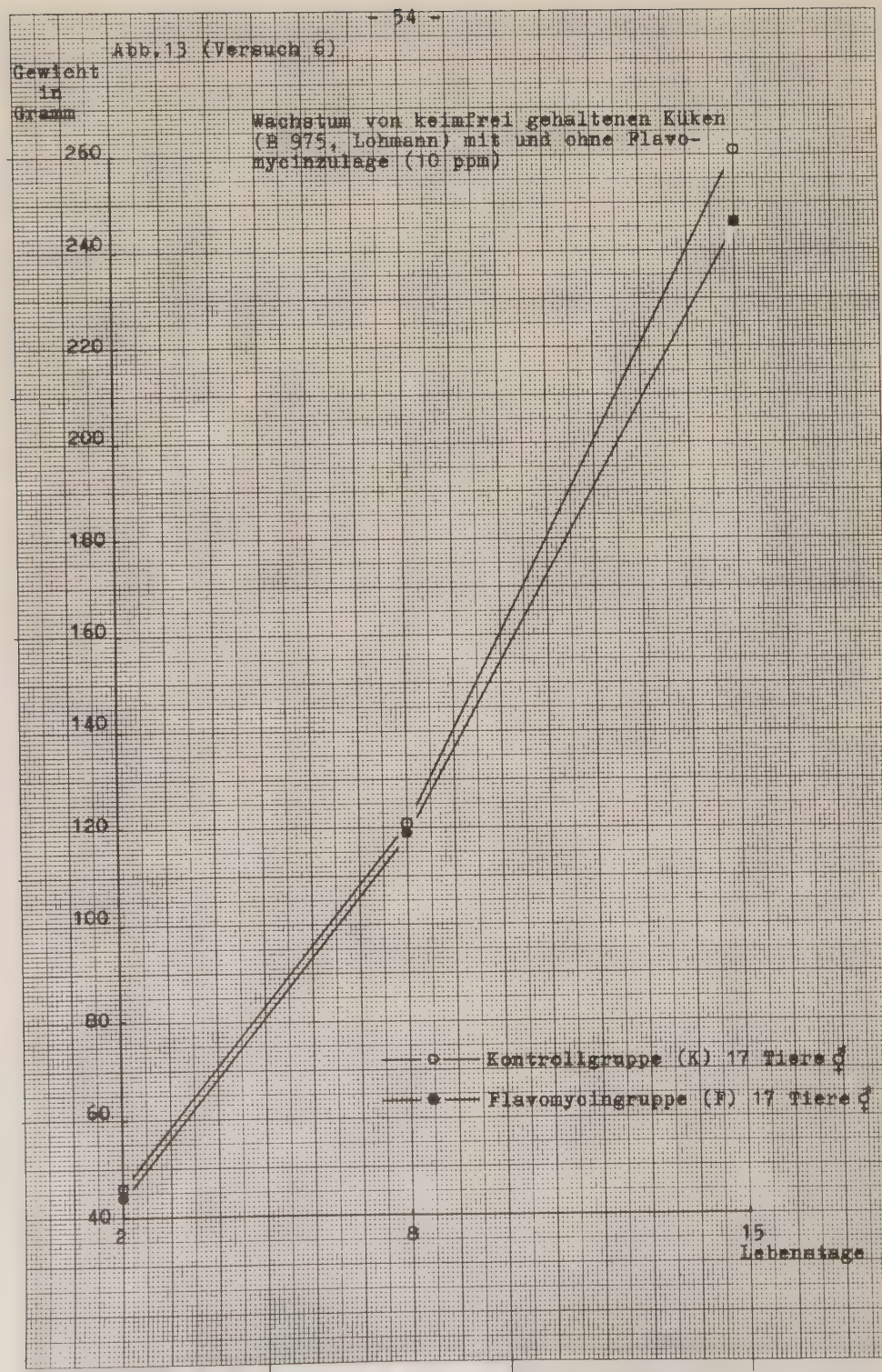
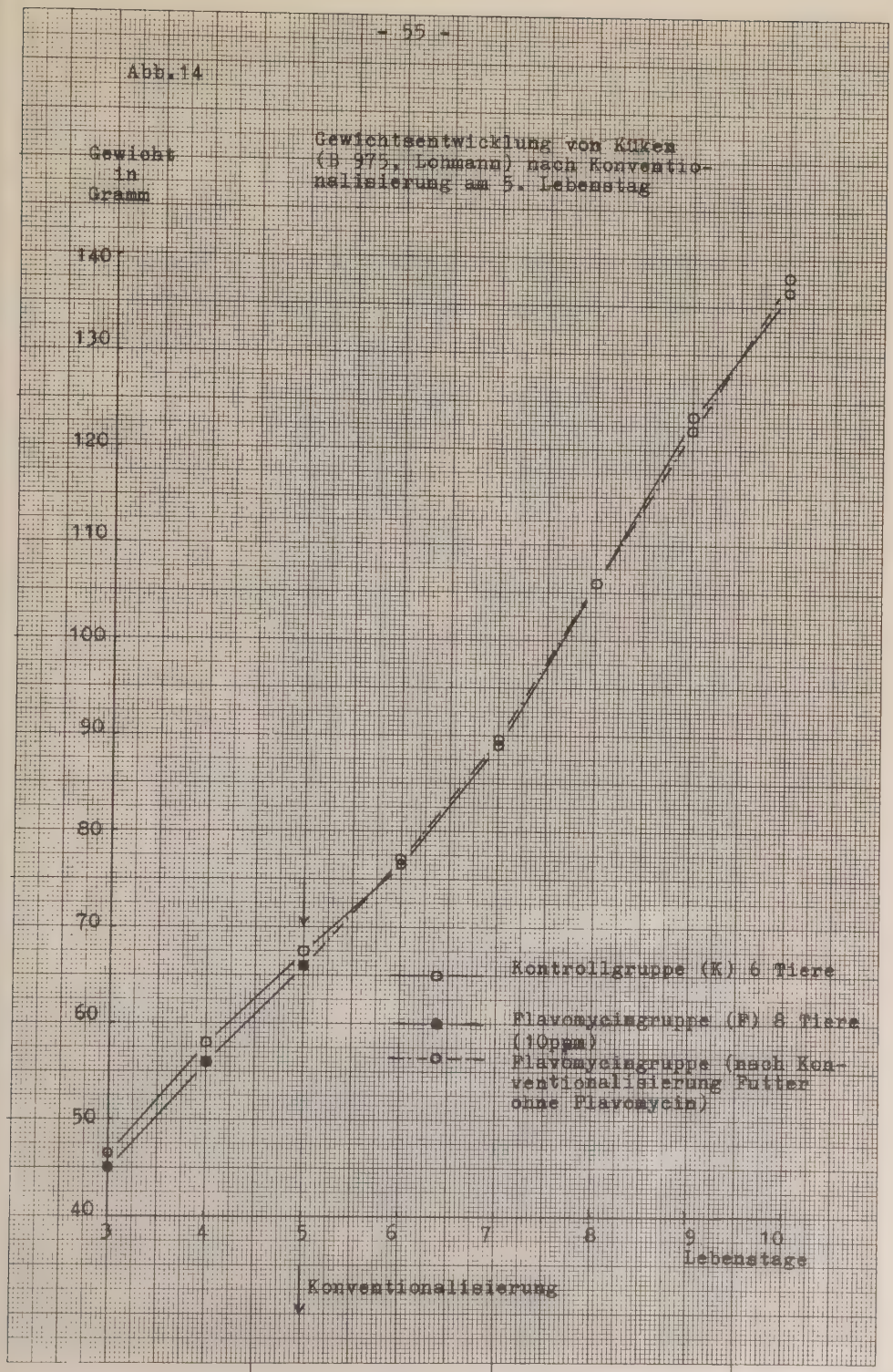


Abb.14


Gewicht in Gramm
Gewichtsentwicklung von Küken (B 975, Lohmann) nach Konventionalisierung am 5. Lebenstag
140
130
120
110
100
90
80
70
60
50
40
3
4
5
6
7
8
9
10
Lebenstage
Konventionalisierung
Kontrollgruppe (K) 6 Tiere
Flavomycingruppe (F) 8 Tiere (10ppm)
Flavomycingruppe (nach Konventionalisierung Futter ohne Flavomycin)

D Diskussion:

Wie schon einleitend bemerkt wurde, sollte mit Hilfe der vorgelegten Experimente geklärt werden, ob nutritiv dosiertes Flavomycin seine Wirkung ausschließlich im Intestinaltrakt entfaltet oder, ob es auch jenseits der Darmwand einen Stoffwechseleffekt hervorrufen kann. Zur Abklärung dieser Frage wurde die beschriebene Versuchsanordnung im keimfreien Milieu gewählt. Durch einen künstlich gesetzten Stress wurde versucht, das Wachstumsniveau keimfreier auf das konventionell gehaltener Küken zu senken und zu prüfen, ob in diesem Sachzusammenhang ein Flavomycineffekt festzustellen ist.

Da oral verabreichtes Flavomycin im Tierkörper mit den bisherigen Methoden nicht erfaßt werden kann (23), andererseits eine Resorption von Flavomycinspuren aber nicht positiv auszuschließen ist, bereitete die Festsetzung sowohl des Injektionsbeginns als auch der jeweiligen Injektionsdosis Schwierigkeiten. Nur eine geeignete Festlegung dieser beiden Kriterien könnte eine Wirkung eventuell resorbierter Flavomycinmengen auf das keimfreie Küken erkennen lassen.

Deshalb wurde bei Versuch 1 und 2 erst am 11.Lebenstag mit den Milchinjektionen begonnen. Die Wachstumskurven dieser beiden Versuche (Abb. 4a und 4b) zeigen, daß die Zulage von 1mg Flavomycin pro kg sterilisiertes Futter die Wachstumsdepression im Gegensatz zu den beiden Kontrollgruppen fast völlig aufheben konnte.

Die Fragestellung, ob bereits zu einem früheren Zeitpunkt eine Wirkung von Flavomycin auf das keimfreie Küken nachweisbar sei, sollte im Versuch 3 überprüft werden. Wie die Ergebnisse (Abb. 5a und 5b) zeigen, scheint diese Annahme nicht völlig zuzutreffen. Mit Ausnahme eines einzigen Tages wurde durch die Milchinjektionen auch eine Wachstumssenkung der Flavomycintiere bewirkt. In diesem Altersabschnitt scheint unter den genannten Bedingungen noch keine ausreichende Flavomycinwirkung bei keimfreien Küken nachweisbar zu sein.

Interessanterweise verursachten die gleichen Injektionsmengen, die denjenigen der ersten beiden Versuche entsprachen, zu diesem früheren Zeitpunkt eine weitgeringere Wachstumsdepression der Tiergruppe ohne Flavomycinzulage (K+). Dieser Befund ist in der

Tendenz Ergebnissen aus Konventionalisierungsversuchen von M e r k e n s c h l a g e r und Mitarbeitern (51) ähnlich. Wie von diesen Autoren beschrieben wurde, steigt das Ausmaß der Wachstumsdepression nach Belastung mit dem Lebensalter der Versuchstiere (Küken) an. Dies wurde so begründet, daß mit der allmählichen Entwicklung des adaptiven Immunsystems die Empfindlichkeit gegenüber einer Belastung zunimmt. Küken, die im Rahmen der vorgelegten Untersuchungen, am 5. Lebenstag konventionalisiert wurden, zeigten kaum eine Wachstumsdepression (Abb.14). Eine Flavomycinwirksamkeit konnte bei der Konventionalisierung deshalb nicht beobachtet werden.

Im 4. Versuch, bei dem die Küken im gleichen Alter wie in Experiment 3 den Belastungen ausgesetzt wurden, sollte aus den erwähnten Gründen mit höheren Injektionsdosen eine stärkere Wachstumsdepression der K+ Gruppe erreicht werden. Diese Maßnahme führte zwar zu einem kontinuierlichen Gewichtsabfall dieser Tiergruppe (Abb.6a), jedoch nicht in dem Ausmaß wie in den ersten beiden Versuchen. Für die Küken mit Flavomycinzulage im Futter (1ppm) stellten

diese größeren Injektionsmengen aber einen zu starken Stress dar (Abb.6b). Sie konnten die Gewichtsdepression nicht während der ganzen Versuchsdauer abfangen.

Da bei der 10-fachen Flavomycinzulage zum Futter eine stärkere Wirkung zu erwarten war, wurde bei Versuch 5, 6 und 7 nochmals der frühe Injektionsbeginn (5. Lebenstag) gewählt. Ein eindeutiger Flavomycineffekt hätte nämlich die Annahme bekräftigen können, daß eine Resorption von Flavomycinspuren bereits zu diesem frühen Zeitpunkt stattfindet, und somit eine Wirkung auf das keimfreie Küken erfolgen kann. In dieser Versuchsserie wurde die Wachstumsdepression durch eine Zulage von 10 mg Flavomycin pro kg sterilisiertes Futter annähernd ausgeglichen (Abb. 7a und 7b).
Die Unterschiede der prozentualen Wachstumsdepression zwischen den K+ Gruppen und F+ Tieren, bezogen auf die nichtbelasteten Kontroll- und Flavomycingruppen (Abb.8),waren statistisch zu sichern. Deshalb ist die aus den Wachstumskurven bereits zu erkennende Tendenz einer Beeinflussung von Flavomycin auf das keimfreie Küken als bestätigt anzusehen.

Die Ergebnisse des 8. Versuchs (Abb.9a und 9b) verdeutlichen nochmals die Befunde des Experiments 4 (Abb.6a und 6b). Obwohl der Flavomycingehalt im Futter auf das 10-fache erhöht wurde, konnte das Antibiotikum nur bis zum 7. Tag die Wachstumsdepression abfangen (Abb.10). Die folgenden höheren Injektionsmengen verursachten bei der F+ und K+ Gruppe eine fast gleich starke Wachstumsdepression.

In den Versuchen von B r ü g g e m a n n und Mitarbeitern (siehe S.19 (50).) konnten die Wachstumsdepressionen bei Küken, die durch gleich hohe Injektionsdosen wie im Versuch 8 verursacht wurden, mit 10 mg Aureomycin/ kg Futter ausgeglichen werden. Das weist darauf hin, daß entweder nur sehr geringe Flavomycinmengen resorbiert werden oder, daß die Stoffwechselwirkung dieses Antibiotikums weit geringer als die von Aureomycin ist.

Ein Wachstumsvergleich der Kontrollgruppe (K) mit der Flavomycingruppe (F)(Abb.11,12 und 13) zeigt, daß die keimfreien Küken mit Flavomycinzulage im Futter allmählich ein geringeres Wachstum aufweisen. Diese Ergebnisse bestätigen die einleitend beschriebene Tatsache (s.S. 9), daß Antibiotikabeigaben

zum Futter keine Wachstumssteigerung keimfrei gehaltener Tiere auslösen. Die Flavomycinzulage verursacht bei den keimfreien Küken in den meisten Fällen sogar eine geringere Gewichtszunahme (vgl. Seite 63).

S c h o l e (52) konnte für das als kaum resorbierbar gehaltene Zink- Bacitracin auf indirektem Wege eine Resorption dieser Substanz nachweisen. Die bisher beschriebenen Ergebnisse bestärken die Annahme, diese Möglichkeit auch für geringe Flavomycinmengen zu erwägen.
Die Ansicht, daß gegebenenfalls Molekülbruchstücke der Fütterungsantibiotika stoffwechselwirksam sein könnten, wurde bereits 1951 von E l a m geäußert(65). Der festgestellte Aktivitätsverlust des Antibiotikums von 10% nach Autoklavierung flavomycinhaltiger Futterproben läßt die Vermutung zu, daß Flavomycin - bruchstücke resorbiert werden, die die beobachtete Wirkung auf das keimfreie Küken ausüben.

Die vorgelegten Befunde zeigen, daß die Beeinträchtigung des Wachstums keimfrei gehaltener Küken durch Injektionen sterilisierter Milch unter bestimmten Bedingungen mit einer Flavomycinzulage im Futter aus-

geglichen werden kann.

Es ist anzunehmen, daß die Ursachen dieser Ergebnisse auf den gleichen Zusammenhängen im intermediären Stoffwechsel beruhen wie bei den geschilderten Versuchen von B r ü g g e m a n n und Mitarbeitern mit Aureomycin (s.Einleitung S.19).

Jetzt wäre deshalb die Frage zu stellen, wie dieser Flavomycineffekt endokrinologisch zu erklären ist. Die folgenden Ausführungen stützen sich weitgehend auf Thesen von B r ü g g e m a n n , S c h o l e und Mitarbeitern (40,50,62).
Wie einleitend (s.Abs.A III.3.) erwähnt wurde,hemmen anabole Hormone die Flavinenzyme. Die Hormone der NNR wirken durch Stimulierung dieser Enzymgruppe antagonistisch.
Fütterungsantibiotika (für Aureomycin unter Beweis gestellt) wirken auf die Flavinenzyme genauso wie die anabolen Hormone. Zugleich üben sie einen steigernden Einfluß auf die NNR - Aktivität aus.
Diese Anregung der NNR ist als Folge der Inhibierung gelber Fermente (Flavinenzyme) durch antibiotische Wirkstoffe anzusehen: Die NNR muß ihr kompensatorisches Defizit durch eine Aktivitätsstei-

gerung aufholen.
Demnach weisen Fütterungsantibiotika als Flavinenzymhemmstoffe neben ihrem anabolen Effekt auch Stressoreigenschaften auf, die bei der optimalen Reaktionslage des keimfreien Tieres nicht zu einer Wachstumssteigerung, sondern zu einer leichten - depression führen (s.S. 61 und Abb. 11,12 und 13) Der Aktivitätssteigerung der NNR-Hormone folgt eine Vermehrung der STH - Produktion, wodurch im Mesenchym ein die Abwehrbereitschaft steigernder endokriner Status resultiert (50). Damit könnte den Antibiotika eine resistenzfördernde Funktion zugeschrieben werden.

Die Belastung durch Milchinjektionen führt beim keimfreien Tier (ohne Antibiotikumzulage), das sich normalerweise wegen der antigenarmen Umwelteinflüsse eine anabole Stoffwechsellage leisten kann, zunächst zu einer Steigerung der Antikörpersynthese im Mesenchym "ohne Rücksicht darauf, ob in anderen, für diese Aufgabe weniger wichtigen Organen eine leicht katabol verschobene Stoffwechsellage erhalten wird" (59).
B r ü g g e m a n n und Mitarbeiter bringen dafür

folgende Erklärung (50):

"STH wirkt als anaboler Faktor in erster Linie auf das für die Abwehr verantwortliche Mesenchym, in zweiter Linie auf den Gesamtorganismus - mit Ausnahme der Leber. Hier übernimmt offensichtlich das Insulin die Funktion des spezifischen Anabolikums. Ähnliches gilt für die entsprechenden katabolen Faktoren, die NNR-Hormone, nur erfassen diese auch die Leber. Wird jetzt durch eine Antigeninjektion das STH-NNR-System zu maximaler Reaktion angestoßen, so ist das Mesenchym sehr schnell derart einreguliert, daß es seine Abwehrfunktion optimal erfüllen kann, im wesentlichen durch Steigerung der STH- und NNR-Hormon-Produktion. Der erhöhte NNR-Hormonspiegel wirkt sich aber auch in der Leber aus. Nur kann das STH hier nicht - wie im mesenchymalen Gewebe - die Aufgabe des Antagonisten übernehmen. Es ist gewissermaßen nicht sein Ressort, so daß hier eine katabole Stoffwechsellage resultiert, bis das spezifische anabole Hormon - das Insulin - entsprechend vermehrt ist. In anderen Geweben dürften ähnliche Verhältnisse zu erwarten sein, weshalb die Einregulierung des Mesenchyms mit einer vorübergehenden Wachstumsdepression des Gesamtorganismus einhergeht. Beim Konventionaltier scheint dieser Zustand - bedingt durch die kontinuierliche Antigenproduktion der Keimflora - chronisch zu sein".

Durch eine unspezifische anabole Verbindung (Antibiotikum) dürfte diese katabole Stoffwechsellage verbessert werden.

Die Fütterungsantibiotika könnten folglich durch eine Doppelfunktion jenseits des Digestionstraktes wirksam werden:

1. Organunspezifischer anaboler Effekt.

2. Steigerung der Abwehrbereitschaft.

Die erzielten Wachstumsergebnisse der vorgelegten Versuche lassen die Annahme zu, auch für Flavomycin diesen Einfluß im intermediären Stoffwechsel als Ursache der Wachstumssteigerung beim konventionell gehaltenen Tier zu betrachten. Es kann jedoch nicht ausgeschlossen werden, daß dieses Antibiotikum zusätzlich auch durch eine Wirkung im Darmlumen einen nutritiven Effekt hervorruft.

E ZUSAMMENFASSUNG:

Durch Versuche mit keimfreien Küken sollte geklärt werden, ob die Wachstumssteigerung konventionell gehaltener Tiere durch Flavomycin - das in nutritiven Dosen nicht resorbierbar sein soll - auf einer Wirkungsentfaltung dieser Substanz entweder nur im Darmlumen oder auch jenseits des Digestionstraktes beruht.

Da keimfreie Küken um 10 - 20% besser wachsen als konventionell gehaltene Tiere, ist bei jenen ein Antibiotikaeffekt nur dann erkennbar, wenn ihr Wachstumsniveau durch sterile Stressfaktoren demjenigen konventioneller Tiere angepaßt wird.
Mit intramuskulären Injektionen sterilisierter Milch wurde versucht, eine Wachstumsdepression der Küken ohne Antibiotikumzulage (K+) auszulösen. Es wurde angenommen, daß die gleich hohen Injektionsmengen bei der Tiergruppe, die von Anfang an Futter mit Flavomycinzulage (1 ppm bzw. 10 ppm) erhielt (F+), keine so deutliche Wachstumsdepression verursachen.

Folgende Ergebnisse wurden erhalten:

1. Der Beginn der antigenen Belastung am 11. Lebenstag führte bei der K+ Gruppe im Gegensatz zur F+ Gruppe (1 ppm) zu einer deutlichen Gewichtsdepression.
2. Bei der Vorverlegung des Injektionsbeginns auf den

4. Lebenstag konnte die Wachstumsdepression nicht an jedem Tag der Versuchsperiode durch Flavomycin (1 ppm) abgefangen werden.

3. Eine Flavomycinzulage von 10 ppm konnte die antigene Belastung (Injektionsbeginn: 5. Lebenstag) annähernd kompensieren. Der Unterschied der prozentualen Wachstumsdepression zwischen der (K+) - und (F+) - Gruppe war statistisch zu sichern.

4. Eine Erhöhung der Injektionsmenge vom 7. Lebenstag an führte zu einer etwa gleich starken Wachstumsdepression der (K+) - und (F+) - Gruppe. Vor diesem Zeitpunkt war jedoch ein Flavomycineffekt feststellbar.

5. Die Flavomycinküken zeigten fast in allen Versuchen ein geringeres Wachstum als die Kontrolltiere.

6. Die Wachstumsdepression der Kontrolltiere war bei später Antigenzufuhr (ab 11. Lebenstag) größer als zum früheren Zeitpunkt.

7. Die Konventionalisierung keimfreier Küken am 5. Lebenstag bedeutete weder für die Kontroll- noch für die Flavomycintiere eine wachstumsdepressive Belastung.

Die Ergebnisse zeigen, daß trotz des völligen Fehlens einer mikrobiellen Darmbesiedlung bei keimfreien Küken eine Wachstumssteigerung durch nutritive Flavo-

mycindosen nachweisbar ist. Das spricht für eine Wirkungsentfaltung dieses Fütterungsantibiotikums jenseits des Digestionstraktes. Zur Diskussion steht ob dafür ausschließlich Flavomycinspuren oder auch Molekülbruchstücke des Antibiotikums verantwortlich sind.

Als Ursache des nutritiven Antibiotikaeffektes wird eine Beeinflussung des intermediären Stoffwechsels durch diese Wirkstoffe diskutiert: Neben einer unspezifischen anabolen Wirkung wird eine Steigerung der allgemeinen Resistenz vermutet.

Die Einwirkung von Flavomycin auf die Darmflora als zusätzliche Ursache der Wachstumssteigerung konventionell gehaltener Tiere ist jedoch mit den vorgelegten Versuchen nicht auszuschließen.

F SUMMARY:

The problem was to clarify by experiments with germfree chickens whether the increase of growth rate of conventional animals by nutritive doses of Moenomycin - which is said to be unabsorbable - is due to the action of this substance either within or also beyond the digestive tract.

As germfree chickens grow better by 10 - 20 per cent than conventional ones, an effect of antibiotic can only be recognized if their growth rate is adapted to that of conventional animals by means of sterile stress factors.

With intramuscular injections of sterilized milk it was tried to induce a growthdepression in the chickens fed without the antibiotic (K+). It was assumed that in the other groups of animals Moenomycin fed from the beginning (1 ppm and 10 ppm respectively) (F+) would prevent growth depression induced by an identical amount of injections.

The following results were obtained:

1. Antigenic stress^{+}beginning on the 11th day of life led to a distinct depression of growth of the K+ group but not in the F+ group (1 ppm).
2. Injections beginning at an earlier date (4th day of life) produced growth depressions which could not be compensated for day by day by Moenomycin (1 ppm).

3. By addition of 10 ppm Moenomycin the antigenic stress beginning on the 5th day of life could nearly be compensated. The difference between the groups (K+) and (F+) in the percentage depression of growth was statistically significant.
4. An increase in the amount injected from the 7th day of life produced similar depressions in groups (K+) and (F+). However an effect of Moenomycin was noticeable before that date.
5. The chickens fed Moenomycin showed a weaker growth than the control animals in nearly all experiments.
6. The growth depression was larger when the antigen was given later (Beginning 11th day of life).
7. The conventionalisation of germfree chickens on the 5th day of life produced a growthdepressing stress neither for the controls nor for the animals with Moenomycin.

The results show that despite the complete absence of microorganisms in the gut of germfree chickens an increase of growth rate induced by nutritive doses of Moenomycin can be proved. This indicates that this antibiotic developes its action beyond the digestive tract. What has to be discussed is, whether only a trace of absorbed Moenomycin or molecular fragments of the anti-

biotic are responsible for this effect.
The influence of these additives on the intermediary metabolism is discussed as the cause of the nutritive effect of antibiotics: Besides an unspecific anabolic effect, an increase of general resistence is assumed.

In conventional animals the influence of Moenemycin on the intestinal bacteria as an additional cause of the increased growth rate can not be excluded.

G LITERATURVERZEICHNIS:

1 Stokstad, E.L.R., T.H. Jukes, J.V.Pierce, A.C. Page Jr., A.L. Franklin
J. biol. chem. 180, 647 (1949)

2 Brüggemann, J.
Arch. f. Tierern. 4, 71 (1954/55)

3 Brüggemann, J.
Dt. Tierärztl. Wochenschr. 62, 14 (1955)

4 Brüggemann, J., H.Zucker
Z.f. Tierern. u. Futtermittelk. 11, 65 (1956)

5 Brüggemann, J., J.Tiews
Mü. med. Wochenschr. 100, 1892 (1958)

6 Knothe, H.
Schweiz. Med. Wochenschr. 46, 1303 (1960)

7 Brüggemann, J.
Züchtungskunde 33, 316 (1961)

8 Knothe, H.
Futter u. Fütterung 12, 65 (1961)

9 Brüggemann, J., J. Tiews
Med.u.Ern. 3, 161 u. 184 (1962)

10 Tiews, J.
Tierärztl. Umschau 20, 406 (1965)

11 Knothe, H.
Dt. Tierärztebl. 15, 26 (1967)

12 Kewitz, H.
Dt.Tierärztebl. (Sonderteil) 15,21 (1967)

13 Bronsch, K.
Dt. Tierärztebl. 15, 24 (1967)

14 Lindner, F., K.H. Wallhäuser
Arch. f. Mikrobiol. 22, 219 (1955)

15 Huber, G., G. Nesemann
Biochem. a. Biophys. Res. Comm. 30, 7 (1968)

16 Wasielewski v. E., R. Muschaweck, E.Schütze
Antimicr. Agents and Chemoth., 743 (1965)

17 Wiedemann, B.
Flavomycin Symposion, Rottach-Egern (1969)

18 Lembke, U., E.v.Wasielewski
Flavomycin Symposion, Rottach-Egern (1969)

19 Huber, G., U.Schacht, H.-L. Weidenmüller
Flavomycin Symposion, Rottach-Egern (1969)

20 Huber, G., U.Schacht, H.L. Weidenmüller, J.Schmidt-Thomé, J.Duphorn, R.Tschesche
Antimicr. Agents and Chemoth., 737 (1965)

21 Brock, F.-X., R.Tschesche, I.Duphorn, D.Lenoir W.Wucherpfennig
Flavomycin Symposion, Rottach-Egern (1969)

22 Kief, H., K.Engelbart
Flavomycin Symposion,Rottach-Egern (1969)

23 Sambeth, W., G.Nesemann, F.Bauer, G.Dost
Flavomycin Symposion, Rottach-Egern (1969)

24 Muschaweck, R., H.G.Vogel
Flavomycin Symposion, Rottach-Egern (1969)

25 Bauer, F., G.Dost, W.Sambeth
Flavomycin Symposion,Rottach-Egern (1969)

26 "Flavomycin, der neue antibiotische Futterzusatz"
Farbwerke Hoechst AG

27 Catron, D.V., H.M. Maddock, V.C. Speer, R.L.Vohs
Antibiot. a. Chemother. 1, 31 (1954)

28 Lev, M., M.Forbes
Brit. J. Nutr. 13, 78 (1959)

29 Forbes, M., J.T. Park
J. Nutr. 67, 69 (1959)

30 Coates, M.E., R. Fuller, G.F. Harrison, M. Lev, S.F. Suffolk
Brit. J. Nutr. 17, 141 (1963)

31 Hohls, H.W.
Z. Tierern. u. Futtermittelk. 10, 238 (1955)

32 Klaus, W.
Z. Tierern. u. Futtermittelk. 11, 1 (1956)

33 Coates, M.E., C.D. Dickinson, G.F. Harrison, S.K.Kon
Biochem. J. 49, lxviii (1951)

34 Linkswiler, H.M., C.A. Baumann, E.E. Snell
J. Nutr. 43, 565 (1951)

35 Biely, J., B.E. March
Science 114, 330 (1951)

36 Scaletti, J.V., W.L. Kulp, R.C. Cleverdon
Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. 81, 552 (1952)

37 Romoser, G.L., M.S. Shorps, G.F. Combs
Proc.Soc. exp. Biol. a. Med. 83, 17 (1953)

38 Sieburth, J.M., J.J. Jezeski, E.G. Hill, L.E. Carpenter
Poultry Sci. 33, 753 (1954)

39 Lev, M., C.A.E. Briggs, M.E. Coates
Nature 178 , 1125 (1956)

40 Schole, J.
Zbl. Vet. med., Beiheft 5 (1966)

41 Zit.nach: Stokstad, E.L.R.
Physiol. rev. 34, 25 (1954)

42 Stokstad, E.L.R.
Physiol. rev. 34, 25 (1954)

43 Broitmann, S.A., D. Flint, N.Zamcheck
J.Lab. and Clin. Med. 70, 9 (1969)

44 Riedel, G., E.Scharrer, U.Lösch
Zbl. Vet. med., im Druck (1972)

45 Scharrer, E., U.Lösch, G.Riedel
in Vorbereitung

46 Tschiderer, K.
Die Bodenkultur 9, 1 (1956)

47 Szilvinyi, A.
Mitt. Versuchsstation f. d. Gärungsgewerbe (Wien)
9/91 (1955) und 9/125 (1955)

48 Halama, A.K.
Die Bodenkultur 10, 3 (1958)

49 Dick, E.L., K.R. Johansson
Antibiot. a. Chemoth. 7, 349 (1957)

50 Brüggemann, J., M.Merkenschlager, H. Schmidt, G.Riedel, J. Schole
Z. f. Tierphys., Tierern. u. Futtermittelk. 25, 321 (1969)

51 Merkenschlager, M. und M., U. Lösch, G. Riedel
Tierärztl. Umsch. 3, 132 (1967)

52 Schole, J.
Kraftfutter 54, 1 (1971)

53 Wakabayashi, T., T. Takabashi, M. Miyakawa
"Advances in Germfree Research and Gnotobiology", p.114, ed. by Miyakawa, M. and T.D. Luckey, Illife Books Ltd. London

54 Thorbecke, G. J., H.A. Gordon, B.S. Wostmann, M.Wagner, J.A. Reyniers
J. inf. Dis. 101, 237 (1957)

55 Wostmann, B.S., H.A. Gordon
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 97, 832 (1958)

56 Gustafsson, B.E., C.B. Laurell
J. Exp. Med. 108, 251 (1958)

57 Merkenschlager, M., U. Lösch, B. Kirchner,
G. Riedel, F. Gruber
Z. Tierphys., Tierern. und Futtermittelk.
22, 337 (1967)

58 Brüggemann, J., H. Karg, J. Schole,
Vit. u. Horm. 7, 338 (1957)

59 Karg, H.
Habilitationsschrift, München (1958)

60 Schole, J.
Hoppe - Seyler`s Z. f. phys. Chem. 317, 218 (1959)

61 Hsü, C.-Y., M.-M. YOK, D.W.C. Chou
Poultry Sc. 49, 1208 (1970)

62 Schmidt, H.
Dissertation (med.vet.), München (1967)

63 Heine, W.
"Gnotobiotechnik", Verlag M.u.H. Shaper,
Hannover (1968)

64 Riedel, G.

Persönliche Mitteilung

65 Elam, I.E., L.L. Gee, I.R. Couch

Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. 78, 832 (1951)

Herrn Professor DDr. DDr. h. c. Johannes Brüggemann danke ich für die Uberlassung des Themas und die guten Arbeitsbedingungen in seinem Institut.

Besonders möchte ich Herrn Dr.Ulrich Lösch und Herrn Dr.Gunter Riedel für die jederzeit gerne gewährte Unterstützung und Beratung danken.

Frau Berta Zettl danke ich für die Beratung bei der technischen Durchführung der Arbeit.

L e b e n s l a u f

Am 31. Dezember 1944 wurde ich in Dietramszell - Schönegg geboren.

Von 1950 - 1958 besuchte ich die Volksschule in Dietramszell und trat dann in das Deutsche Gymnasium in Freising ein. Dort legte ich im Juni 1965 die Reifeprüfung ab.

Im Wintersemester 1966/67 begann ich an der Universität München mit dem Studium der Tiermedizin, das ich im September 1971 mit dem Staatsexamen abschloß.
Am 16. November 1971 wurde mir die Bestallung als Tierarzt erteilt.

Zur Zeit bin ich Beschautierarzt am Städtischen Schlacht - und Viehhof München.